I. Beiträge zur Untersuchung der Proteine einiger indischer Nahrungsmittel unter Berücksichtigung ihrer chemischen Zusammensetzung und ihres biologischen Nährwertes

II. Phosphor in pflanzlichen Proteinen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
einer hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg

vorgelegt von

Y. V. Sreenivasa Rau
M. Sc. (Bom.), A. I. I. Sc., A. I. C. (Lond.)
aus Yelandur im Staate Mysore, Indien.

Halle (Saale) 1936

Eduard Klinz Buchdruck-Werkstätten Halle (Saale), Dölauer Str. 14

I. Beiträge zur Untersuchung der Proteine einiger indischer Nahrungsmittel unter Berücksichtigung ihrer chemischen Zusammensetzung und ihres biologischen Nährwertes

II. Phosphor in pflanzlichen Proteinen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
einer hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg

vorgelegt von

Y. V. Sreenivasa Rau
M. Sc. (Bom.), A. I. I. Sc., A. I. C. (Lond.)
aus Yelandur im Staate Mysore, Indien.

Halle (Saale) 1936

Eduard Klinz Buchdruck-Werkstätten Halle (Saale), Dölauer Str. 14

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Berichterstatter: Prof. Dr. C. A. Rojahn
Mitberichterstatter: Prof. Dr. Scholder
Tag der mündlichen Prüfung: 22. 4. 1936

Meiner verstorbenen Mutter
in Dankbarkeit gewidmet

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544704_0150

INHALT

	Seite
Allgemeiner Teil	1
Einleitung	1
Praktischer Teil	11
I. Arbeitsmethoden	11
II. Versuchsergebnisse	25
Zusammenfassung	46
Literaturangaben	48
Lebenslauf	50

ALLGEMEINER TEIL

Einleitung.

Das Protein ist wesentlich für die Erhaltung des Lebens und für Aufbau und Ersatz des Körpergewebes. Wenn ein ausgewachsener normaler Mensch genügend Kohlehydrate und Fett aber kein Protein erhält, wird er trotzdem im Harn eine gleichbleibende Menge von Proteinabbauprodukten ausscheiden, die aus dem Körperprotein hervorgegangen sind. Wenn diese Proteinmenge nicht ersetzt wird, wird das Individuum wegen der Zerstörung des Körpergewebes allmählich dahinsiechen.

Man sagt, ein Individuum befindet sich im Stickstoffgleichgewicht, wenn der tägliche Verlust an Stickstoff aus dem Körper seinen Ausgleich findet im Stickstoffgehalt der Kost . Wenn andererseits die Stickstoffausscheidung die Zufuhr überschreitet, so sagt man, der Stickstoffausgleich ist negativ. Ein positiver Ausgleich zeigt die Bildung von Körperprotein an, wie ein negativer Ausgleich das Anzeichen von Gewebezerstörung ist. Unter optimalen Bedingungen, darin stimmen die meisten Beobachter überein, kann 0,5—0,7 g Protein je kg des Körpergewichtes als erforderliche Mindestmenge angesehen werden, unter der Voraussetzung, daß genügend Kohlehydrate und Fett aufgenommen werden, um den Energiebedarf des Körpers zu decken. Als ganz allgemein angenommener Normalsatz, der für die Erhaltung des notwendigen Sicherheitsspielraumes erforderlich ist, gilt 1 g Protein je kg Körpergewicht pro Tag.

Der Stoffwechsel des Proteins ist im wesentlichen der Stoffwechsel der Aminosäuren. Wenn Protein gefüttert wird, so wird es im Darmsystem zu bestimmten Aminosäuren abgebaut. Da die Aminosäuremoleküle klein sind, gelangen sie schnell durch die Darmwände in die Blutbahn und dann in die Zellen, wo sie im Sinne des Aufbaus vom Körpergewebe umgesetzt werden. Das eingeführte Protein muß zum Aufbau des tierischen Körpergewebes verschiedene Aminosäuren enthalten. Wenn in den Proteinen eine der wesentlichen Aminosäuren fehlt, so kann kein Körpergewebe aufgebaut werden. Die Bedeutung der wesentlichen Aminosäuren wird im Einzelnen auf den folgenden Seiten besprochen.

Da die Proteine des Fleisches, der Milch und der Eier denen der tierischen Gewebe hinsichtlich der Beschaffenheit und der relativen Menge der aufbauenden Amino-

säuren viel mehr entsprechen als die aus pflanzlichen Geweben (Getreidearten und Hülsenfrüchte), so liegt es auf der Hand, daß der Stickstoffausgleich mit einer kleineren täglichen Zufuhr von tierischem als von pflanzlichem Protein erreicht werden kann. So entsprechen z. B. 30 g Fleich-Protein etwa 54 g Bohnen-Protein, 76 g Brot-Protein und 102 g Getreide-Protein. Diese Tatsache ist von erheblicher Bedeutung für die vegetarische Kost.

Neben der Erhaltung des Lebens und dem Aufbau des Körpergewebes dient das Protein als wichtiges Vorbeugemittel gegen Krankheiten, indem es die Widerstandsfähigkeit erhöht.

Nach diesen kurzen Vorbemerkungen möchte ich im Folgenden einen Überblick über einige wichtige indische Nahrungsmittel geben. Indien ist hauptsächlich ein Land des Ackerbaues. Weitaus der größte Teil der Bevölkerung dieses Landes lebt von vegetarischer Kost. In idealem Verhältnis enthält die Milch alle wesentlichen Aminosäuren, jedoch können sich in Indien besonders die ärmeren Schichten selbst dieses Nahrungsmittel nicht leisten. Getreide und Hülsenfrüchte bilden daher die Hauptquelle des Proteins in ihrer Nahrung. Sie werden wegen ihrer niedrigen Preise gewöhnlich als Ersatzmittel für tierisches Protein benutzt. Es ist deshalb volkswirtschaftlich von äußerster Wichtigkeit festzustellen, ob und in welchem Ausmaße die in diesen Nahrungsmitteln enthaltenen Proteine, die für das Wachstum und für die Erhaltung nötigen wesentlichen Aminosäuren liefern.

Durch vorliegende Arbeit sollte ein Beitrag zu der Klärung obiger Frage durch Untersuchung einiger indischer pflanzlicher Nahrungsmittel hinsichtlich der Beschaffenheit der vorhandenen Proteine und ihres Nährwertes geliefert werden.

Niogi, Narayana und Desai (28) haben eine systematische Untersuchung einiger anderer als von mir untersuchter indischer pflanzlicher Nahrungsmittel im Hinblick auf die chemische Zusammensetzung und den biologischen Nährwert der in ihren enthaltenen Proteine durchgeführt. Die Ergebnisse ihrer Untersuchung sind im Indian Journal of Medical Research niedergelegt.

Bevor ich meine Untersuchungen beschreibe, soll eine kurze theoretische Erörterung dieses Problems nach folgenden Gesichtspunkten gegeben werden:

a) Proteingehalt,
b) Wesentliche Aminosäuren,
c) Optimale Proteinzufuhr,
d) Wachstum,
e) Unterernährung und Entzug des Proteins,
f) Notwendigkeit der Proteinzufuhr,

g) Rolle des Proteins in der Nahrung,
h) Verdaulichkeit der Proteine,
i) Biologischer Nährwert der Proteine.

a) Proteingehalt:

Die verschiedenen Nährstoffe besitzen einen verschieden großen Gehalt an Protein. Im Allgemeinen berechnet man verabredungsgemäß den Proteingehalt aus dem Stickstoffgehalt nach der Formel: Stickstoffgehalt × 6,25 = Proteingehalt. Der Faktor 6,25 stellt die Proteinmenge in g dar ,der 1 g Stickstoff im Durchschnitt bei tierischen und pflanzlichen proteinhaltigen Nahrungsmitteln entspricht. Die Verwendung dieses Faktors setzt voraus, daß aller Stickstoff der Nahrungsmittel aus dem Protein stamme. Diese Voraussetzung trifft zwar nicht ganz zu, jedoch ist der Fehler bei der Berechnung des Proteingehaltes einer gemischten Kost nur gering. Nicht der ganze Stickstoff der Nahrungsmittel liegt nämlich als Proteinstickstoff vor. Nach Kestner (19) stammen 15—20 % des Stickstoffs der üblichen Nahrungsmittel nicht aus dem Protein. In der Milch fanden Denis und Minot (9) nicht aus dem Protein stammenden Stickstoff ungefähr in der gleichen Konzentration wie im Blut. Verschiedene Futtermittel und gewisse zur menschlichen Ernährung verwendete Pflanzen enthalten relativ große Mengen andersartig gebundenen Stickstoff. Der Nährwert gerade dieser stickstoffhaltigen Bestandteile ist bisher nicht bestimmbar. Mitchell nimmt an, daß, wenn man jene Stickstoffverbindungen gleichwertig mit Protein ansetzt, nur ein kleinerer Fehler entsteht, als wenn man sie überhaupt nicht wertete, und zwar deshalb, weil sie nach seiner Untersuchung größtenteils aus Aminosäuren und anderen verwertbaren Spaltungsprodukten des Proteins bestehen. Es ist deshalb einfacher anzunehmen, daß das wirkliche Proteinbedürfnis eines Individuums etwas geringer ist, als sich aus den nach der üblichen Berechnung ermittelten Proteinwerten der Kost ergibt.

b) Wesentliche Aminosäuren:

Es ist bekannt, daß gewisse Aminosäuren, die im Körper nicht aufgebaut werden können, in der Form von Proteinen zugeführt werden müssen. Und zwar handelt es sich um folgende Aminosäuren, die für die Erhaltung des menschlichen Körpers unentbehrlich sind: Tryptophan, Arginin, Histidin, Tyrosin oder Phenylalanin, sowie Cystin und Lysin. Letzteres ist notwendig für das Wachstum. Gelatine enthält praktisch kein Cystin und kein

Tyrosin. Jedes Nahrungsmittel, dem teilweise oder ganz eine oder mehrere dieser wichtigen Aminosäuren fehlen, reicht nicht für die Erhaltung des Stickstoffgleichgewichtes aus. Der Mangel an Aminosäuren begrenzt die Verwendungsmöglichkeit solcher Nahrungsmittel. Fehlen wichtige Aminosäuren nicht gänzlich, sondern sind in bedeutend geringerer Menge als in optimalen Verhältnis vorhanden, so kann das Leben erhalten werden durch Zuführung genügend größerer Mengen dieses Nahrungsmittels. Solche Nahrungsmittel sind also immerhin ausreichend verwendbar. Ihre Unzulänglichkeit kann ferner ausgeglichen werden durch gleichzeitigen Zusatz anderer proteinhaltiger Nahrungsmittel. So fanden Martin und Robinson (24), daß es nötig sei, 0,15 g Stickstoff oder 0,8 g Protein je kg Körpergewicht in Form von Weizenmehl zu geben, um das Stickstoffgleichgewicht zu sichern. Sherman (40) fand, daß Getreide-Protein dem Fleisch-Protein gleichwertig war, wenn eine genügende Menge Milch zu gleicher Zeit gegeben wurde.

Jackson, Sommer und Rose (17) vertreten die Ansicht, daß der Mangel der Gelatine an Cystin nicht durch die Ersetzung der fehlenden Aminosäuren ausgeglichen werden kann, auch wenn die Gelatine in hydrolisierter Form gegeben wird. Ja, sie fanden, daß die teilweise Ersetzung von Kohlehydraten durch Gelatine in einer entsprechenden Kost, die Protein in Form von Casein enthielt, das Wachstum der Ratte hemmte. Durch diese Untersuchungen wurde nicht nur festgestellt, daß die Gelatine in Bezug auf die Aminosäuren unzureichend ist, sondern es wurde auch bewiesen, daß sie sogar eine schädliche Wirkung auf das Wachstum hat. Hoagland und Snider (13) fanden, daß die meisten tierischen Proteine, die für die menschliche Ernährung gebraucht werden (einschließlich der Milch und der Milchpulver) annähernd gleichen Wert haben und somit hochwirksame proteinhaltige Nahrungsmittel sind. Der Stickstoff in vielen Pflanzen kann jedoch nicht so wirtschaftlich ausgenutzt werden. Es ist vielmehr seit langem bekannt, daß, wenn wenig proteinhaltige Nahrungsmittel gegeben werden, die Hälfte oder zwei Drittel des Stickstoffes in der Form von tierischem Protein gegeben werden sollte.

c) Optimale Proteinzufuhr:

Wie Mitchell (22) hervorgehoben hat, besteht kein wirklicher Grund für die Annahme, daß die optimale Proteinzufuhr größer sein müsse als das minimale Bedürfnis an gleichwertigem Stickstoff. Jedoch individuelle Verschiedenheiten und die oben erwähnten Faktoren in der Kost

lassen es ratsam erscheinen, etwas mehr als dem durchschnittlichen minimalen Bedürfnis entspricht, zu verabreichen. Letzteres liegt, wie schon erwähnt, zwischen 0,5 g und 0,7 g Protein je kg Körpergewicht täglich, während der allgemein angenommene Normalbetrag, der den notwendigen Überschuß garantiert, 1 g Protein pro kg täglich ist (wenn für Proteinstickstoff in der Kost N × 6,25 eingesetzt wird). Es ist dann um so notwendiger für diesen Überschuß zu sorgen, wenn die Versuchskost sowohl bezüglich des Kalorien- wie des Proteingehaltes getrennt werden soll. Während des Weltkrieges untersuchte Jansen (18) die Stickstoffausscheidung bei einer Gruppe von Medizinstudenten, die täglich 1600 Kalorien aus Fett und Kohlehydratnahrung und dazu 11 g Stickstoff in Form von Eiweiß erhielten. Obgleich ihr Gewicht 9 bzw. 12 Pfund unter ihrem Vorkriegsgewicht war, zeigten sie bei obiger Kost dennoch negativen Stickstoffausgleich, der zwischen 1,3 und 3,9 g Stickstoff täglich schwankte. Unter Annahme eines Durchschnittgewichtes von 70 Kilo bei diesen Versuchspersonen von kräftiger Gestalt, kann geschätzt werden, daß sie etwa 1 g Protein je kg täglich zu sich nahmen und 1,2 g verbrauchten. Wie der weiter unten erwähnte Selbstversuch Loewi's zeigt, hätte dem Stickstoffverlust dieser Studenten wahrscheinlich durch eine größere Gabe von Fett oder Kohlehydrat vorgebeugt werden können ohne die Proteinzufuhr zu ändern.

Loewi (20) fand nämlich, daß er in ständigen negativem Stickstoffausgleich blieb bei einer Kost von 60 g Protein mit 1600 Kalorien, aber der Stickstoffverlust wurde unmittelbar durch die Zukost von 200 g Butter behoben.

d) Das Wachstum:

Das Stickstoffbedürfnis des wachsenden Kindes ist weniger genau untersucht, als das der Erwachsenen. Holt und Fales (14) schlossen aus einer Arbeit über die übliche Beköstigung, daß ein Kind im Alter von 1 Jahr 4 g Protein je kg erhalten sollte. Diese Menge könnte allmählich im Alter von 6 Jahren bis auf 2,6 g je kg vermindert werden. Letztere Menge sollte dann bis zum Ende der Wachstumsperiode beibehalten werden. Bartlett (3) jedoch behauptet, daß diabetische Kinder zwischen 4 und 14 Jahren ein Bedürfnis auf 0,6—1 g Protein je kg für die Erzielung normalen Wachtums haben, das befriedigt werden muß, wenn sie genügend Kalorien und Vitamine erhalten sollen.

Es ist also erforderlich, besonders während der Wachstumsperiode die Güte wie die Menge der proteinhaltigen Nahrung zu beachten. Es ist klar, daß die bereits

erwähnten lebenswichtigen Aminosäuren für das Kind noch notwendiger sind, als für Erwachsene, wobei noch besonders zu bedenken ist, daß Lysin zwar für die Erhaltung nicht unbedingt notwendig aber für das Wachstum unersetzbar ist. Holt und Fales (14) empfehlen $^2/_3$ des in Form von tierischem Protein notwendigen Proteins zu geben (dazu gehören natürlich auch Milch und Eier).

e) Unterernährung und Entzug des Proteins:

Wenn die Proteinzufuhr beständig unter der Menge gehalten wird, die zur Erhaltung des minimalen Stickstoffgleichgewichtes nötig ist, so vermindert sich allmählich die Stickstoffausscheidung im Harn, und, falls die Einschränkung der Kost nicht zu übermäßig ist, so kann das Gleichgewicht vielleicht auf einer abnorm niedrigen Höhe des Stickstoff-Stoffwechsels gehalten werden. Der Zeitraum, der bis zur Erlangung dieses Minimums verstreicht, wird von dem Grade der Proteineinschränkung und dem kalorischen Wert der Kost abhängen, wenn Beides, Kalorien und Protein gleichzeitig vermindert wird, wird der Proteinabbau größer sein, als wenn wenig proteinhaltige aber kalorienreiche Kost gegeben wird. Ein Individuum kommt ins Stickstoffgleichgewicht bei solch anormaler Ernährung nur auf Kosten seines Ernährungszustandes. Wenn nunmehr die Proteinration vergrößert wird, so wächst der Stickstoffgehalt des Harns nicht in gleichem Maß und die Versuchsperson kann einen positiven Stickstoffausgleich bei weniger als der normalen Erhaltungskost aufweisen. Dieser positive Ausgleich wird anhalten, bis der Organismus den Gewebeschwund ersetzt hat, der durch die zeitweilig verabreichte proteinarme Ernährung hervorgerufen war. Ein positiver Stickstoffausgleich, dem nicht eine Anreicherung des sogenannten „Reststickstoffs" im Blut parallel geht und der länger anhält als der kurze Zeitraum, der für die Erreichung des Gleichgewichtes nach jeder Koständerung notwendig ist, tritt bei Erwachsenen nur auf, wenn sie vorher einem teilweisen oder vollständigem Proteinentzug unterworfen wurden. Das Auftreten eines solchen verlängerten positiven Stickstoffausgleiches nach Zuführung von Protein zur Kost kann daher als eindeutiger Nachweis von vorhergegangener Unterernährung angesehen werden.

Die bloße Tatsache, daß das Stickstoffgleichgewicht auch erreicht werden kann bei einer willkürlich zusammengesetzten Kost, ist noch kein Zeichen dafür, daß diese Kost der Erhaltung des normalen Ernährungszustandes eines Individuums angemessen ist, bis nicht der Beweis

erbracht ist, daß eine ausgiebigere Kost keinen positiven Stickstoffausgleich schaffen würde.

Hoesslin (15) fand, daß die Verabreichung einer kalorienreichen Kost zu einer geringen Gewichtszunahme bei den in Bezug auf Protein unterernährten Individuen führte, wenn die Kalorien lediglich aus Fett und Kohlehydraten bestritten wurden. Wenn in den Bestandteilen der Kost nunmehr auch das Protein vermehrt wurde, sodann konnte eine größere Gewichtszunahme erreicht werden.

Fett und Kohlehydrate hatten in diesem Falle ihre übliche Wirkung indem sie die Aufspeicherung von Proteinen förderten.

Die Proteinmenge, die unterernährte Individuen resorbieren können, ist begrenzt. Wenn die Kost über die Mindestmenge, die für die Erzielung eines positiven Stickstoffausgleichs erforderlich ist ,gesteigert wird, wird jede folgende Zufuhr an Protein weniger vollständig zurückgehalten als die letzte. Wahrscheinlich gibt es einen Punkt, über den hinaus die Vermehrung des Proteins in der Kost keinen Nutzen mehr bringt. Wenn beides, Kalorien und Protein, längere Zeit hindurch auf niedriger Höhe gehalten werden, so können auch die körpererhaltenden Kräfte der Stoffwechselfunktionen geschwächt werden.

f) Notwendigkeit der Proteinzufuhr:

Die Tatsache, daß der tierische Organismus Protein als wichtigsten Aufbaustoff für eine Anzahl von Substanzen verschiedener physiologischer Funktionen verwendet, führt naturgemäß zu einem forgesetzten Bedarf an Protein im Körpersystem. So führt bei den Säugetieren die Abnutzung der hornigen Oberfläche der Haut, das Wachstum der Behaarung und die Schleimabsonderung im Darm zu einem ständigen Verlust an Protein und damit an Stickstoff. Wird eine Bestimmung des Stickstoffs im Harn angestellt, so findet man, daß sogar dann, wenn durch die Nahrung kein Stickstoff zugeführt wird, durch den Körper eine Stickstoffausscheidung von etwa 2,5 g täglich für einen Mann mittleren Gewichtes stattfindet; das bedeutet etwa 3,5 mg auf jedes kg Körpergewicht. Die Verteilung des Harnstickstoffes wird in der folgenden Tabelle, die aus einer Folinschen Arbeit stammt, gezeigt:

Verteilung des Harnstickstoffes	Durchschnittliche Kost mg N je kg Körpergewicht in 24 Stunden	Proteinarme Kost mg N je kg Körpergewicht in 24 Stunden
Harnstoff	14,0	2,2
Ammoniak	0,5	0,4
Kreatinin	0,57	0,6
Harnsäure	0,23	0,09
unbestimmt	0,70	0,27

Die obigen Zahlen zeigen recht klar, daß, während die Ausscheidung des Harnstoffs und der Harnsäure von der Beschaffenheit des Nahrungsmittelnachschubs abhängt, ein gleichbleibender Verlust von Stickstoff in der Form von Kreatinin unter allen Umständen stattfindet.

Protein und Stickstoff müssen deshalb bei dem Körper fortlaufend wieder zugeführt werden und es ist die Frage, ob Proteins und Aminosäuren als solche in der Kost nötig sind, oder ob der tierische Organismus die Aminosäuren und Proteine aus einfacheren Verbindungen aufbauen kann.

g) Rolle des Proteins in der Nahrung:

Nunmehr soll die Rolle des Proteins in der Kost betrachtet werden. Das Tier braucht die Nahrung einerseits um stofflichen Verlust auszugleichen und andererseits die für die Lebensfunktionen notwendige Energie zu erzeugen. Zahllose Tierfütterungsversuche haben gezeigt, daß bei den Säugetieren zur Erhaltung der Gesundheit eine Mischkost nötig ist, die Proteine, Fette, Kohlehydrate, Mineralsalze und Wasser enthält. Die Bedeutung weiterer Faktoren, der Vitamine, ist bekannt und soll hier nicht näher erörtert werden.

Schon im Jahre 1906 erkannte Loewy (21), daß es für den Aufbau des Proteins im Körper, d. h. also für das Wachstum nicht nötig ist, in der Kost Protein als solches zu verabreichen. Das ist auch durch viele spätere Forschungen bestätigt worden. Abderhalden und Rona (12) fütterten Mäuse mit Casein und Zucker und Caseinabbauprodukten, die auf verschiedene Art hergestellt waren. Sie fanden, daß eine Kost von Casein, das durch Trypsin verdaut und mit Zucker ergänzt war, ebensogutes Wachstum hervorrief, wie eine Kost mit unverändertem Casein und Zucker. Wenn zur Hydrolyse von Casein anstelle von Trypsin Pepsin benutzt wurde, waren die Ergebnisse nicht so befriedigend, und bei der Verwendung von Schwefelsäure zur Hydrolyse schließlich, verloren die Tiere schnell an Gewicht und starben nach wenigen Tagen.

Willcock und Hopkins (46) zeigten, daß die Ursache der unbefriedigenden Ergebnisse, die durch den

Abbau mit Säuren erzielt wurden, in der Zerstörung des Tryptophans in den Caseinabbauprodukten durch die kochende Säure lag.

Die Bedeutung des Lysins und des Tryptophans in einer Kost findet ihren Ausdruck in dem Auftreten eines Zustandes, der als „Pellagra" bezeichnet wird. Eine übersichtliche Zusammenstellung über die medizinische Geschichte dieser Krankheit wird von Wilson (50) gegeben, das Ergebnis seiner Arbeiten wird unten aufgeführt werden. Die Pellagra ist eine Krankheit, die nur bei den ärmsten Bevölkerungsschichten in den Tropen auftritt und fast immer als Begleiterscheinung einer dürftigen Maiskost. Sie ist charakterisiert durch Abzehrung, einem schmerzhaftem Hautausschlag an den unbedeckten Körperteilen, durch Ödembildung und durch nervöse Symptome, die schließlich zum Wahnsinn führen können. Sie kann im Frühstadium noch durch Zuführung von frischem tierischen Protein geheilt werden, ist aber später unheilbar. Mais-Protein enthält sehr wenig Lysin und Tryptophan, die beide in reichlicher Menge in allen tierischen Proteinen vorhanden sind. Daher scheint der Schluß gerechtfertigt, daß diese beiden Aminosäuren in der Kost des Menschen wesentlich und notwendig sind, und ihre Abwesenheit zu der oben geschilderten Krankheit, der Pellagra, führt.

Während des Weltkrieges entwickelte sich, besonders in Österreich bei vielen Menschen infolge der dauernden Unterernährung ein Zustand, der als „Kriegsödem" bekannt ist. Diese Fälle verschwanden nach Kriegsende schnell nach dem Einsetzen der amerikanischen Hilfsaktion, sodaß angenommen werden kann, daß die Krankheit mehr die Folge von ernstlichen Mängeln in der Beschaffenheit der Kriegskost als die dauernde Beschränkung in der Menge war.

Chick und Hume (7) geben eine Aufstellung über die Versuchsergebnisse, die erzielt wurden, als man Affen eine Zeitlang hindurch mit einer Kost fütterte, in der die Proteinbestandteile aus einem Gemisch von Zein, das etwa die Hälfte des Mais-Proteins ausmacht und Maisglutelin bestanden. Diese Mischung enthält nur Spuren von Tryptophan und Lysin. Trotzdem die Kost in jeder anderen Hinsicht ausgeglichen war, verloren die Affen schnell an Gewicht, bekamen einen erythematischen Hautausschlag im Gesicht und an anderen Teilen des Körpers und in einem Falle ein ausgesprochenes Ödem. In 2 Fällen ließ der Gewichtsverlust sofort nach, als Tryptophan zur Kost zugesetzt wurde und Ödem, sowie Hautausschlag im Gesicht gingen zurück, nachdem Tryptophan und Lysin in Form des Handels-Caseins zugesetzt waren.

h) Verdaulichkeit des Proteins.

Die Verwertbarkeit der Aminosäuren eines Proteins hängt ab von der Fähigkeit der Ernährungsenzyme es zu spalten. Aminosäuren werden durch die Körperzellen aufgenommen, während Pepton und andere höher molekulare Körper, die noch in gewissem Maße die koloidalen Eigenschaften der Proteine haben, nicht aufgenommen werden können und somit einen Verlust für den Körper darstellen. Je verdaulicher ein Protein ist, d. h. je weiter er abgebaut wird, desto größer ist daher auch sein Nährwert. Die Verdaulichkeit einer Anzahl von Proteinen der Nahrungsmittel wird sehr gefördert durch vorheriges Kochen.

i) Der biologische Nährwert der Proteine.

Es ergibt sich, daß der Wert irgendeines Proteins in einer Kost abhängig ist, teils von seiner Verdaulichkeit, teils von den Aminosäuren, die es enthält. Rubner (39) scheint der Erste gewesen zu sein, der das Vorhandensein von Proteinen von verschiedenem biologischen Wert erkannte, und Thomas (43) gab später diesem Gedanken eine klare Form, indem er den „Biologischen Wert" bestimmte als die Menge Körperstickstoff, die durch 100 Teile Stickstoffnahrung ersetzt werden kann. Der Gedanke, den Wert verschiedener Proteine in einer arithmetischen Formel auszudrücken, ist zwar theoretisch richtig, aber das praktische Verfahren, durch das diese Werte erlangt werden sollen, ist der Gegenstand lebhafter Erörterung geworden.

Martin und Robinson (24) gaben eine wertvolle Geschichte und Kritik dieser Arbeiten. Sie gaben als biologische Werte für Weizenproteine 31—35, und für Milch-Proteine 51 an. Für Gelatine, das einzige Rein-Protein, das sie für Versuche verwendeten, konnte kein Wert gewonnen werden. Wagner (49), der über das Wachstum von Kindern zwischen 9 und 13 Jahren arbeitete, gibt als Werte für Proteine an:

Milch-Protein = 80—85	Kalbfleisch-Protein = 53
Ei-Klar = 80	Mais-Protein = 54

Wagner (49) hat gezeigt, daß der biologische Nährwert eines Proteins durch die Hinzufügung eines anderen gesteigert werden kann und es ist leicht verständlich, daß 2 Proteine, die jedes für sich als „arm" bezeichnet werden können, doch eine proteinhaltige brauchbare Kost ergeben, wenn sie zusammen gegeben werden, da ja der Mangel des einen durch das Andere ausgeglichen werden kann. Mc. Collum, Simmonds und Pitz (26) zeigten das Gelatine (für sich allein ein „armes" Protein) den Nährwert des Haferproteins bedeutend steigern kann.

PRAKTISCHER TEIL

Versuchsverfahren zur Bestimmung des biologischen Nährwertes.

Gegenwärtig sind 2 Verfahren zur Bestimmung des biologischen Nährwertes der Proteine gebräuchlich. Das eine, von Thomas (43) eingeführt, beruht auf der Schätzung des Stickstoffausgleiches und ist jetzt in seiner verbesserten Form als das Mitchellsche (22) Verfahren bekannt (auch Mitchell und Carman (23)). Die Arbeit dieser beiden Forscher berichtet auch über Versuche des Stickstoff-Stoffwechsels junger wachsender Ratten unter kontrollierten Fütterungsbedingungen. Zur Berechnung des biologischen Nährwertes eines Proteins wird der Hundertsatz des aufgenommenen Stickstoffs bestimmt, der in einem Versuchstier zurückbleibt und der zum Wachstum und Aufbau im Körper verbraucht wird.

Nach einer anderen Methode, die von Osborne, Mendel und Ferry (30) eingeführt worden ist, wird der Nährwert eines Proteins an der Zunahme des Körpergewichtes der Versuchstiere gemessen und dann auf 1 g des verbrauchten Proteins bezogen. Die Werte, die nach den beiden Verfahren erhalten werden, sind nicht miteinander vergleichbar, weil das eine die Wirksamkeit eines Proteins in Bezug auf den Ausgleich der Abnutzung und dem Abbau von Körpergewebe mißt, während das andere die Fähigkeit eines Proteins angibt, neue Gewebe zu bilden. Es ist nicht möglich zu sagen, welches Verfahren einen genaueren Maßstab für den Nährwert eines Proteins liefert. Der Vorteil von Mitchells Verfahren ist die kürzere Dauer der Versuchsperioden, und daß das für die Stoffwechselversuche erforderliche Protein viel leichter für die gleiche Anzahl Ratten beschafft werden kann, als das nach dem Osborneschen Verfahren benötigte. Bei allen in dieser Arbeit angestellten Versuchen wurde das Mitchellsche Verfahren angewandt.

Meine Untersuchungen an Ratten über den Stickstoffstoffwechsel.

6 junge Albinoratten, die zum gleichen Wurf gehörten, befinden sich in Glasgefäßen von den Außenmaßen 17 mal 14 mal 13 cm. Um eine gute Lüftung zu sichern, wird der obere Rand der Glaskästen mit einer Metallplatte be-

deckt, die zahlreiche Löcher von etwa 1 cm ∅ besitzt. Ferner ist eine Vorrichtung zur Befestigung einer Trinkröhre, die destilliertes stickstoffreies Wasser enthält, am Deckel angebracht. Diese fingerlange und -dicke Röhre endet unten in einer Kapillare, sodaß kein Wasser ausfließen, aber durch Saugen von den Tieren entnommen werden kann. Auf dem Boden des Käfigs liegen 2—3 Schichten Filterpapier genau in den Maßen des Käfigs, den Harn aufzunehmen. Zuletzt wird ein Metallgewebe über das Filterpapier gelegt, um die Ratten am Verzehren des Papiers zu hindern.

Zubereitung des Futters.

	ohne Eiweiß	mit Eiweiß	Eine Ration mit 5 % Proteingehalt mit Mehl	m. 10 % Proteing. mit Mehl
Rohrzucker	10	10	10	10
Butterfett	8	8	8	8
Lebertran	2	2	2	2
Agar-Agar	1	1	—	—
Salzgemisch *)	4	4	3	25
Globulin	—	5	—	—
Mehl	—	—	Ausreichend für einen Gehalt von 5 % Protein (N×6,25) durch Analyse ermittelt.	Ausreichend für einen Gehalt von 10 % Protein (N×6 25) durch Analyse ermittelt.
Stärke	75	70	Zur Ergänzung auf 100	Zur Ergänzung auf 100

*) Die Zusammenstellung des Salzgemisches geschah nach der Vorschrift von Osborne und Mendel [29] und zwar folgendermaßen:

$CaCO_3$	134,8 g	Zitronensäure	111,1 g
$MgCO_3$	24,2 g	Ferrozitrat	6,34 g
Na_2CO_3	34,2 g	KJ	0,02 g
K_2CO_3	141,3 g	$MnSO_4$	0,079 g
H_3PO_4	103,2 g	NaF	0,248 g
HCl	53,4 g	$K_2Al_2(SO_4)_4$	0,025 g
H_2SO_4	9,2 g		

Die Säuren wurden gemischt und die Karbonate und das Ferrozitrat hinzugesetzt. Die Spuren von Jodkali, Mangansulfat, Natriumfluorid und Alaun werden in Form von Lösungen bekannter Stärke hinzugesetzt. Die entstandene Mischung wurde durch Überleiten eines Luftstromes von 90—100° (Fön) eingedampft und dann zu feinem Pulver verrieben.

Alle Bestandteile einer Ration, außer den Fetten, wurden mit genügend Wasser gemischt und auf einem Wasserbad erhitzt, bis die Stärke vollständig dextrinisiert war. Dann werden die Fette hineingemischt und die Mischung in dünnen Schichten auf Glasplatten ausgebreitet und bei etwa 60—70° C getrocknet. Sie wurde dann zerbröckelt, zu Pulver verrieben und der Gesamtstickstoffgehalt der Mischung festgestellt.

Alle weiter unten beschriebenen Stoffwechselversuche dauerten je 10 Tage und zwar wurde nur an den letzten 7 Tagen der Harn und der Kot täglich gesammelt. Beim Wechseln der Kost wurden jedesmal während der ersten 3 Tage Harn und Kot nicht gesammelt und analysiert. Das Körpergewicht wurde am Anfang und Ende eines jeden Stoffwechselversuches festgestellt. Das Futter wurde täglich in die Näpfe hineingewogen und mit ein wenig Wasser zu einem dicken Brei gemischt, um das Herumwerfen zu verhindern. Am folgenden Tage wurde der übriggebliebene Rest herausgekratzt und bei 60—70° C getrocknet. Die Futterreste eines jeden Tages wurden nach einigen Tagen der Trocknung gewogen und das Gewicht von der Menge des gegebenen Gesamtfutters abgezogen, um die täglich verbrauchte Futtermenge festzustellen. Es ist schon von anderer Seite gezeigt worden, daß der bei dieser Bestimmung eintretende Fehler, der durch einen Unterschied im Feuchtigkeitsgehalt des ursprünglichen Futters und der Reste derselben entstehen kann, geringer als 1 % ist. Es ist auch festgestellt worden, daß der Stickstoffgehalt der Futterreste dem des ursprünglichen Futters entspricht.

Harn und Kot wurden täglich gesammelt. Der Kot wurde unter 95 %igem Alkohol, der mit wenigen ccm Schwefelsäure versetzt worden war, aufbewahrt. Der Käfig und das Papier einer jeden Ratte wurden 4—6mal, im ganzen mit 250 ccm heißem schwefelsäurehaltigem Wasser ausgewaschen. Die Waschflüssigkeiten wurden durch ein Büchnerfilter gegossen und in einen Meßkolben von 250 ccm gespült. Am folgenden Tage wurde bis zur Marke aufgefüllt und dann in Flaschen von 2,5 l Inhalt gegossen, in denen die wöchentlichen Gesamtproben aufbewahrt wurden. Die Flaschen enthielten einige Thymolkristalle und wurden in einem kalten Raume bis zur Analyse aufbewahrt. Von dieser Lösung wurden je 100—250 ccm auf ihren Gesamtstickstoffgehalt analysiert.

Die wie oben beschrieben gesammelte Wochenmenge Kot wurde wie üblich mit K_2SO_4, $CuSO_4$ und rauchender H_2SO_4 versetzt und im Kjeldahlkolben bis zur vollständigen Mineralisierung erhitzt. Um die Oxydation zu beschleunigen setzte ich hierbei etwa 0,1 g Selen zu. Schließlich wurde in einem Meßkolben auf 250 ccm aufgefüllt und wie üblich je 25—50 ccm der Ammoniakdestillation unterworfen.

Die Genauigkeit des Verfahrens, das zur Bestimmung der Ausscheidung an Stickstoff im Harn benutzt wurde, wurde von anderer Seite in einer umfassenden Sonderarbeit geprüft, weil die Bestimmung des biologischen Nähr-

wertes des Proteins natürlich von der genauen Bestimmung des Harnstickstoffs abhängt.

Mitchell (22) hat seinerzeit bewiesen, daß die Harnstickstoffextraktion aus dem Filterpapier praktisch vollständig ist. Es zeigte sich, daß das zur Aufsaugung des Harns verwendete Filterpapier nur kleine Mengen Stickstoff zurückhielt. Mitchell hat durch Versuche gezeigt, daß die durch Zurückhaltung von Harn in den Filterpapierrückständen entstehenden Fehler offensichtlich unerheblich in Bezug auf ihre biologische Auswirkung sind. Ein Stück von der von ihm bei den Stoffwechselversuchen benutzten Größe enthielt etwa 0,4 mg. Da 2 Stück je Käfig täglich gebraucht wurden, so belief sich der Fehlen auf 0,8 mg höchstens. Insofern der zurückbleibende Stickstoffrest unlöslich in Säure war, würde er die Ergebnisse weder nach der einen, noch nach der anderen Richtung hin beeinflussen. War er aber löslich, so würde er den Fehler verringern, der aus der unvollständigen Auslaugung des Harnstickstoffs aus dem Filterpapier herrührt.

Die Vollständigkeit der Gewinnung des Harns aus dem Filterpapier durch die zum Nachwaschen benutzten 250 ccm heißer verdünnter Säure ist von Mitchell durch folgenden Versuch bewiesen worden. Er nahm extrahierte Filterpapierrückstände von verschiedenen Ausgleichperioden und zog jeden mit 2 bis 3 l kochendem Wasser aus, das mit Schwefelsäure angesäuert worden war. Den Auszug filtrierte er, dampfte ihn bis auf ein kleines Volum ein und bestimmte darin nach der Kjedahl-Methode den Stickstoff. Die so erhaltenen Ergebnisse, verglichen mit den Mengen Harnstickstoffe, die in der entsprechenden Ausgleichsperiode bestimmt waren, sind in der folgenden Tabelle wiedergegeben.

Die Vollständigkeit des Auszuges von Harnstickstoff aus dem Filterpapier, das zu seiner Aufsaugung benutzt wurde (die Ergebnisse sind ausgedrückt in mg wöchentlich):

mit 250 ccm verdünnter Säure extrahierter Harnstickstoff.	ausziehbarer Stickstoff, der in den Papierresten verblieb.	Fehler in %
918	26	2,8
913	25	2,7
181	25	1,4
174	25	1,4

Der durch die Zurückhaltung von Harn in den Filterpapierrückständen entstehende Fehler ist offentsichtlich unerheblich in Bezug auf seine biologische Auswirkung.

Über die weiteren Arbeiten über die Genauigkeit der Bestimmungen des Harns- und Kotstickstoffs wird berichtet in einer Abhandlung von Nevens (27). Hierbei ergab

sich ein Fehler von nur 2—3 % bei der Auslaugung von Harnstickstoff aus dem Filterpapier, und ferner wurde festgestellt, daß keine Verluste von Stickstoff eintreten im Verlauf der 24—48 Stunden, in denen die Möglichkeit der bakteriellen Zersetzung von Harn oder Kot besteht, auch nicht im offenen Käfig bei einer Temperatur von 40° C.

Bestimmung der Menge des Kotstickstoffs, der durch den Abbau von Körpergeweben entstanden ist, des sogenannten „Stoffwechselstickstoffs im Kot".

Der „biologische Nährwert eines Proteins" wird bestimmt aus den Produkten der Proteinverdauung im Körper.

Die Bestimmung der verdauten und aufgenommenen Proteinmenge aus einer gegebenen Proteinzufuhr wird erschwert durch die Schwierigkeit zu unterscheiden zwischen Kot, der aus dem Futter und jenem, der aus dem Darmsystem und seiner Ausscheidung herrührt. Eigentlich sollte nur der erstere aus der Proteinzufuhr hergeleitet werden, um den Betrag des aufgenommenen Proteins zu erkennen. Es sind verschiedene Methoden erdacht worden, um jene Trennung mittels Enzymen oder besonderen Lösungsmitteln zu erreichen, jedoch sind die Mutmaßungen, auf die solche Verfahren gegründet wurden, nicht besonders überzeugend, und die Technik enthält Bedingungen bezüglich Zeit und Temperatur ,die ganz willkürlich gewählt sind.

Thomas zog es daher vor, die sogenannte Stoffwechselstickstoffausscheidung des Kots zu messen an den täglichen Stickstoffausscheidungen im Kot bei einer praktisch stickstoffreien Ernährung, und neuerdings haben Martin und Robinson dieses Verfahren Mitchells in ihre eigene Berechnung aufgenommen. Es wurde jedoch zugrunde gelegt, daß die Ausscheidung des Stoffwechselstickstoffs unabhängig ist von der Menge und Art der verbrauchten Nahrung. Obgleich die letzten beiden Forscher vollauf die Tatsache kannten, daß die Zusammensetzung der Kost von ihrem Gehalt an unverdaubarem Material abhängt, das die Ausscheidung der Stoffwechselprodukte im Kot sehr beeinflussen kann. Sie meinen jedoch, daß die Bestimmung des Stoffwechselstickstoffs des Kotes der Faktor ist, der die Genauigkeit des biologischen Nährwertes der Proteine nach dem Verfahren von Thomas begrenzt.

Auf Grund dieser und vieler ähnlicher Ergebnisse haben Mitchell und seine Mitarbeiter den Schluß gezogen, daß das beste und praktischste Verfahren der Er-

rechnung des Stoffwechselstickstoffs im Kot von Ratten bei einer versuchsweise verabreichten proteinhaltigen Kost die ist, in einer Periode der Fütterung einer nicht stickstoffhaltigen Kost die Ausscheidung des Kotstickstoffs je g des verbrauchten Futters zu bestimmen und diese Zahl zu der verbrauchten Menge des proteinhaltigen Futters hinzuzählen, so in den folgenden Versuchsperioden.

Obgleich viele Einwände gegen dieses Verfahren erhoben worden sind, scheint es jedoch die beste benutzbare Methode zu sein, es sollte daher nicht nach den theoretisch möglichen Fehlern, sondern nach der Beschaffenheit und Durchschlagskraft der erreichten Ergebnisse gewertet werden.

Die Bestimmung der Menge des Harnstickstoffs, die aus dem Körper stammt.

Nachdem wir einen Wert für den aufgenommenen Stickstoff aus einer gegebenen Stickstoffzufuhr gewonnen haben, gilt der nächste Schritt der Ermittlung des biologischen Nährwertes des Proteins in der Kost der Bestimmung der im Körper zurückbleibenden Menge an aufgenommenen Stickstoff. Für die meisten Zwecke genügt es zu bestimmen, wieviel von dem aufgenommenen Stickstoff im Harn ausgeschieden wird, da die Stickstoffausscheidung aus dem Körper auf anderen Wegen unbedeutend ist.

Die Bestimmung der Stickstoffmenge, die sich aus dem Stoffwechselabbau der Endprodukte der Verdauung des Proteins in der Kost ergibt, wird erschwert durch die Tatsache, daß bekanntlich der Harn stickstoffhaltige Stoffe aus der Abwertung der Gewebe des Körpers enthält, ebenso wie stickstoffhaltige Endprodukte aus der Abwertung des Proteins in der Kost. Da die stickstoffhaltigen Endprodukte dieser 2 Typen des Stoffwechselabbaues des sogenannten „endogenen" und des „exogenen Stoffwechselabbaues" nach Folin (10) chemisch nicht eindeutig unterschieden werden können, müssen sie durch ein indirektes Verfahren bestimmt werden. Das einzige annehmbare indirekte Verfahren, den Harnstickstoff endogenen Ursprungs zu messen, ist der vollständige Ausschluß des exogenen Stoffwechselabbaues durch die Fütterung mit einer stickstoffreien Kost, indem man außerdem Vorsorge trifft, daß eine ausreichende Menge solcher Kost verzehrt wird, um genügend Energie für den Bedarf des Versuchstieres zu beschaffen. So allein wird die Oxydation des Körpergewebes für diesen Zweck verhindert, mit ihrem unvermeidbaren Verlust an Körperstickstoff, der nicht eigentlich in dem endogenen Stickstoff enthalten ist,

der gemessen werden soll. Thomas und neuerdings Martin und Robinson haben diese Verfahren zur Bestimmung des im Harn ausgeschiedenen endogenen Stickstoffs angewandt. Unter Einsetzung der so erhaltenen Werte zur Erklärung der Gleichgewichtsdaten, die in den folgenden Fütterungsversuchsperioden gewonnen worden sind, die zur Messung des biologischen Nährwertes angestellt wurden, ist also eine Annahme eingeführt worden, die nur eine theoretische Rechtfertigung besitzt. Diese Annahme besagt, daß der Stoffwechselabbau jener Körpersubstanzen, die Stickstoff enthalten und die während der Fütterung von stickstoffreier Kost weiter bestehen bleibt, auf gleicher Höhe anhält, wenn die Proteinfütterung wieder aufgenommen wird. Die Annahme stimmt überein mit Folins (10) Theorie vom Stoffwechsel des Proteins, aber die Daten der Versuche Folins beweisen nur, daß die Ausscheidung des Kreatinins konstant ist. Da dieser Stoff nur 20 oder weniger % desjenigen Harnstickstoffs zu enthalten scheint ,der bei stickstoffreier Kost ausgeschieden wird, so ist die Theorie von einem konstanten endogenen Stoffwechselabbau stickstoffhaltiger Substanzen nicht überzeugend und muß in vielen Teilen abgelehnt werden.

Herstellung des Proteins aus indischen Nährstoffen.

Ich habe vorbereitende Versuche in der Weise durchgeführt, daß ich das betreffende Samenmehl nacheinander mit Natriumchloridlösungen verschiedener Konzentration, 70 % igem Alkohol und Natriumhydroxydlösungen ausgezogen habe, in der Absicht die Beschaffenheit und den Hundertsatz des vorhandenen Proteins zu bestimmen. Verschiedene Verfahren, die von den Eigenschaften des vorhandenen Proteins abhingen, wurden angewandt, um das Protein zu isolieren. Dabei zeigte es sich, daß die untersuchten Nährstoffe als hauptsächliches Protein Globulin oder Prolamin enthielten. Die hierbei von mir angewendeten Verfahren zur Isolierung der Proteine sollen kurz beschrieben werden.

Isolierung des Globulins.

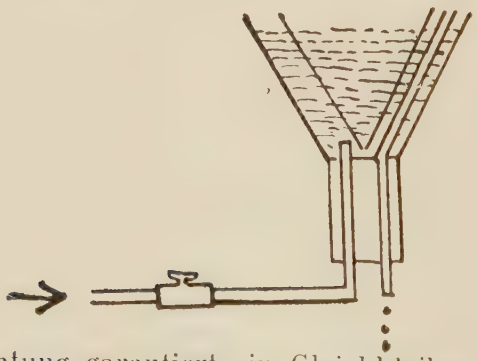
Die Isolierung des Globulins aus dem Nährstoff wurde von mir nach zwei verschiedenen Verfahren ausgeführt.

1.) nach dem Dialyse- und
2.) nach dem Verdünnungs-Verfahren.

1.) Dialyse-Verfahren.

1 kg des Mehls wurde mit 2 l Kochsalzlösung (dessen optimale Konzentration durch einen vorbereiteten Versuch bestimmt worden war) etwa 1 Stunde lang auf der Schüttelmaschine geschüttelt. Die Mischung wurde durch ein Musselintuch geseiht und dann der Rückstand wieder mit 1,5 l Kochsalzlösung (von der gleichen Konzentration wie oben) etwa $^1/_2$ Stunde lang geschüttelt und ebenfalls durch Musselintuch koliert. Die beiden Auszüge wurden vereinigt und zur vollständigen Klärung durch Filterpapier filtriert. Um einer bakteriellen Zersetzung vorzubeugen, wurden dem Extrakt einige Tropfen Toluol zugesetzt. Bei den Auszügen von Trigonella foenum graecum war die Filtrierung wegen des Schleimgehaltes und der damit verbundenen hohen Viskosität des Auszuges fast unmöglich. Der Schleim wurde von Sastri und Hariharadyer (12 untersucht.

Die bei der Dialyse verwendete Vorrichtung bestand aus einem großen Trichter von etwa 20 cm ∅. Der Hals des Trichters wurde mit einem doppeltdurchbohrten Korken verschlossen, durch den 2 Röhren gingen. Von diesen reichte die eine fast bis an den oberen Rand des Trichters, die andere nur durch den Korken. Die Kürzere war mit einem Gefäß verbunden, das destilliertes Wasser enthielt. Das längere Rohr diente als Abflußrohr. Die Versuchsanordnung geht aus der Abbildung hervor.



Die Vorrichtung garantiert ein Gleichbleiben des Wasserspiegels im Trichter. Ein Stück Pergamentpapier, trichterförmig gefaltet und etwas kleiner als der Trichter selbst, wurde eingesetzt und dann der zu dialysierende klare Extrakt hineingegossen. Der Abfluß des Wassers aus dem Dialysator wurde durch einen Schraubquetschhahn geregelt, sodaß in der Sekunde 3—4 Tropfen durch das längere Rohr ausflossen. Sowohl zum Extrakt wie zum Wasser im Vorratsgefäß wurde Toluol zugesetzt, um die Entwicklung von Bakterien zu verhindern. Von Zeit zu Zeit wurden einige Tropfen des Dialysates mit Silbernitrat ge-

prüft. Gaben die Dialysate keinen Niederschlag mehr, so war dies das Anzeichen für die vollständige Dialyse. Diese dauerte etwa 8—10 Tage.

Nach Beendigung der Dialyse wurde der Inhalt des Pergamentbeutels in ein 3 l Becherglas gegossen und mit destilliertem Wasser das anhaftende Protein vollständig in das Becherglas hineingespült. Nach kurzer Zeit schlug sich das Globulin am Boden des Becherglases nieder. Die darüber stehende Flüssigkeit wurde abgesaugt und der Filtrationsrückstand zentrifugiert. Das Globulin wurde dann, um es von absorbiertem Albumin zu trennen 2—3mal mit destilliertem Wasser nachgewaschen. Das so gewonnene Protein war noch mit Stärke verunreinigt. Deshalb wurde es in der Mindestmenge einer 2 % igen Kochsalzlösung gelöst, von der Stärke abfiltriert und wieder dialysiert. Nachdem die Dialyse sich als vollständig erwies, wurde die Mischung zentrifugiert. Das Globulin wurde, um es von Albumin zu befreien wiederum zunächst zweimal mit destilliertem Wasser, dann mit verschieden konzentriertem Alkohol und schließlich mit Äther gewaschen. Schließlich wurde es in einem evakuierten Exsikkator getrocknet und zu feinem Pulver vermahlen, dann durch ein feines Sieb gerieben und in gutverschlossenen Flaschen für die Analyse aufbewahrt.

Es wurde auch noch eine andere Vorrichtung für dialytische Versuche verwendet. Sie bestand aus einem zylindrischen Gitter, das mit Hilfe von Glasstäben konstruiert worden war. Dies zylindrische Gitter wurde in ein Pergamentpapier eingesetzt und dieses mittels Gummibändern in seiner Lage gehalten. Die Dialysiergestelle wurden an einem Stativ befestigt und in einen großen Glastrog von etwa 10—15 l Fassungsvermögen hinuntergelassen. Die zu dialysierende Flüssigkeit wurde in den Pergamentbeutel gegeben. In den Glastrog wurde währenddessen destilliertes Wasser derart gepumpt, daß der Spiegel des Extrakts und der des Wassers etwa gleich hoch standen. Dem Extrakt und dem Wasser wurde wie oben Toluol zugesetzt. Zur Beschleunigung wurde der Einsatz ständig durch einen Motor gedreht. Mindestens 3—4mal täglich wurde das destillierte Wasser im Trog erneuert. Das niedergeschlagene Globulin wurde wie oben beschrieben weiter behandelt.

2.) Verdünnungsverfahren.

Der im vorigen Kapitel beschriebene klare Salzextrakt wurde mit der 5—6fachen Volummenge destillierten Wassers verdünnt und CO_2 hindurchgeleitet bis eine Trübung eintrat. Nun wurden wenige ccm Eisessig zugesetzt, um das Ausfällen des Globulins zu vervollständigen. Die überste-

hende Flüssigkeit wurde abgesaugt, und der Rückstand zentrifugiert. Das rohe Protein wurde in 2%iger Kochsalzlösung aufgelöst und filtriert, um es von Stärke und anderen Verunreinigungen zu trennen. Das klare Filtrat wurde dann wieder mit der 5—6fachen Volummenge destilliertem Wassers verdünnt, und das ausgefällte Protein durch Waschen mit verschieden konzentriertem Alkohol und schließlich mit Äther entwässert und zum Schluß in einem evakuierten Exsikkator getrocknet. Das getrocknete und gepulverte Protein wurde durch ein feinmaschiges Sieb geschickt und zur Analyse in Flaschen aufbewahrt.

Die Isolierung des Prolamins.

1 kg des prolaminhaltigen Mehls wurde mit 2 l 70%igem Alkohol 2—3 Stunden lang auf einem kochendem Wasserbade erhitzt und dann durch einen Büchnertrichter filtriert. Der Rückstand wurde wieder mit 1 Liter 70%igem Alkohol ausgelaugt und filtriert. Die beiden vereinigten Extrakte wurden auf einem Wasserbad im Vakuum zu einem dicken Sirup konzentriert. Der Sirup wurde in das 5—6fache Volum Aceton gegossen, wobei das Prolamin zugleich mit dem Lezithin (falls solches vorhanden war) ausgefällt und niedergeschlagen wurde, die überstehende Schicht wurde abgesaugt und der Rückstand zentrifugiert. Das noch unreine Prolamin wurde dann in 10%iger Phenollösung aufgelöst und filtriert. Das Lezithin ist in Phenol unlöslich und wurde auf diese Weise ausgeschieden. Der klare Extrakt wurde wieder mit Aceton verdünnt und auf diese Weise das Prolamin ausgefällt. Der Prolaminniederschlag wurde dann sehr sorgfältig eine Zeitlang mit Wasser gewaschen, um ihn von Phenol zu befreien und auf die in dem vorhergehenden Verfahren schon beschriebene Weise entwässert.

Analyse der Proteine.

2—3 g der Proteine wurden in 150 ccm 24%iger Salzsäure aufgelöst und in einem Paraffinbad von konstanter Temperatur (110°) 36 Stunden lang erhitzt.

Nach Beendigung der Hydrolyse wurde der Überschuß an Salzsäure unter vermindertem Druck abdestilliert. Die zurückbleibenden Hydrochloride wurden im Wasser gelöst und wiederum unter reduziertem Druck konzentriert, um auch die letzten Reste der Salzsäure zu entfernen. Der Kolbenrückstand wurde vom ungelösten Teil abfiltriert und in einem Meßkolben zur Marke aufgefüllt. Der ungelöste Teil enthält das säure-unlösliche Melanin, das kjeldahlisiert wurde. Ferner wurde eine bestimmte Menge

des klaren Filtrates kjeldahlisiert, um die Menge des darin enthaltenen Gesamtstickstoffs zu erhalten.

Amidstickstoff.

2 ccm des obigen Hydrolysates wurden zur Bestimmung des Säuregehaltes der Lösung mit 0,1-n-Natronlauge titriert. Nun wurde ein schwacher Überschuß Calciumoxyd zugesetzt und der freiwerdende Ammoniak unter vermindertem Druck aus einem 50° warmen Wasserbade in vorgelegte n-Schwefelsäure abdestilliert. Nach Beendigung der Destillation wurde der Rücsktand im Destillierkolben abfiltriert und mehrmals mit heißem destilliertem Wasser nachgewaschen. Der Niederschlag enthielt nun das säurelösliche Melanin, das kjeldahlisiert wurde, während die Hexonbasen aus dem klaren Filtrat nach folgendem Verfahren ausgefällt wurden.

Ausfällung der Hexonbasen.

Das Filtrat aus dem vorhergehenden Versuch wurde grob auf 200 ccm ergänzt. Dann wurde genügend konzentrierte Salzsäure zugesetzt um $^1/_1$ Normalität der Säure zu erreichen. Der Erlenmeyerkolben nebst Inhalt wurde durch Einhängen in ein kochendes Wasserbad auf etwa 100° erhitzt und dann 15 g feste Phosphorwolframsäure zugesetzt. Bei der Abkühlung der Lösung schieden sich die Hexonbasen aus. Die Mischung wurde 24 Stunden lang im Zimmer und weitere 24 Stunden im Eisschrank aufbewahrt, was nötig ist wegen des sehr langsamen und unvollständigen Ausfällens des Arginins. Die ausgefällten Phosphor-Wolframsäureverbindungen der Hexonbasen wurden abfiltriert und mehrmals mit 0,1 n-Salzsäure (Eisgekühlt,, gewaschen bis das Filtrat mit Bariumchlorid keinen Niederschlag mehr ergab. Nun wurde der Niederschlag mit destilliertem Wasser in ein Becherglas gespült, in der Mindestmenge verdünnter Natronlauge aufgelöst und in einem Meßkolben auf 200 ccm aufgefüllt. Diese Hexonbasenlösung wird mit „basischer Fraktion" bezeichnet. Das obige saure Filtrat wurde in einen Meßkolben ebenfalls ausgefüllt und bildete die „unbasische Fraktion". Die Bestimmungsmethoden für Arginin, Histidin, Lysin und Cystin in der „basischen Fraktion" soll nun kurz beschrieben werden.

Arginin:

100 ccm der basischen Fraktion werden durch Zusatz von Natriumhydroxyd auf eine 40 %ige NaOH-Konzentration gebracht. Alsdann erhitzt man die Flüssigkeit auf dem Drahtnetz sechs Stunden lang am Rückfluß und

destilliert dann den Ammoniak ab. Dieser wird in vorgelegter 0,1 n-Schwefelsäure aufgefangen. Während der alkalischen Hydrolyse zerfällt das Arginin in 1 Molekül Ornithin und 1 Molekül Harnstoff. Der hieraus gewonnene Stickstoffwert muß mit 2 multipliziert werden, um den Wert des Arginin-Stickstoffs zu erhalten.

Nach Plimmer und Rosedale (33) wird das Arginin durch Phosphorwolframsäure nicht vollständig ausgefällt, sodaß der unausgefällte Anteil in der „Mono-Amino-Fraktion" auftritt. Arginin wurde daher ,wie oben angegeben, stets direkt im Hydrolysat bestimmt.

Histidin:

Das Histidin wurde nach der bekannten Formel Histidin-Stickstoff = $^3/_2$ D — $^9/_8$ Argininstickstoff berechnet, wobei mit D die Gesamtmenge Nicht-Amino-Stickstoff in der basischen Fraktion bezeichnet wird.

Cystin:

Das Cystin wurde in der „basischen Fraktion" in Gegenwart der Phosphorwolframsäure nach der von Plimmer und Lowndes (32) abgeänderten Vanslyke- (45) Methode unter Verwendung von Benedict-Denis (4) Reagens bestimmt.

100 ccm der „basischen Fraktion" wurden mit 20 ccm konzentrierter Salzsäure angesäuert und darauf mit 25 ccm Benedict Denis Reagens versetzt. Diese Mischung wurde in einem Porzellantiegel auf dem Wasserbade bis zur Trockenheit verdunstet und der Rückstand auf offener Flamme zur Rotglut erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde er mit 50 ccm verdünnter Salzsäure ausgezogen und abfiltriert. Das Filtrat war anfangs klar, trübte sich aber nach einiger Zeit infolge Abscheidung von Wolframsäure. Es wurde nochmals filtriert ,das Filtrat erwärmt, mit 25 ccm 10 %iger Bariumchloridlösung versetzt, der Niederschlag des Bariumsulfats nach längerem Stehen in einem Gooch-Tiegel abfiltriert und 2—4 mal mit verdünnter Ammoniaklösung gewaschen, um so die letzten Spuren der eventuell mit ausgeschiedenen Wolframsäure zu beseitigen. Schließlich wurde der Niederschlag mit absolutem Alkohol und zuletzt mit Äther gewaschen.

Lysin:

Nachdem die Werte für Arginin, Histidin und Cystin bestimmt worden sind, findet man den Wert für Lysin mit Hilfe der Gleichung: Lysin-Stickstoff = Gesamtmenge des basischen Stickstoffs — (Arginin + Histidin + Cystin-Stickstoff). Die erhaltenen Werte siehe Seite 27, 30, 32 und 34.

Diamino- und Monamino-Stickstoff.

Der in den „basischen" und „nichtbasischen Fraktionen" enthaltene Aminostickstoff wurde mit Hilfe des bekannten Vanslykeschen Apparates bestimmt. Eine bestimmte Menge jener Lösung, in der der Aminostickstoff bestimmt werden sollte, wurde in der Apparatur mit salpetriger Säure behandelt und das Volumen des freigewordenen Stickstoffs gemessen. Das abgelesene Volumen wurde wie üblich auf das Normalvolum umgerechnet. Bei der Berechnung des Aminostickstoffs muß das halbe Volumen Stickstoff zugrunde gelegt werden, da 2 Moleküle Stickstoff durch die Reaktion mit HNO_2 entwickelt werden. Die für die Bestimmung des Aminostickstoffs der „basischen Fraktion" im Vanslykeschen Apparat benötigte Zeit war eine Stunde, da die E-Aminogruppe des Lysins sich nur langsam umsetzt, während bei der „nicht-„basischen Fraktion" im Vanslykeschen Apparat be-

Da Tyrosin, Tryptophan und Cystin während der Hydrolyse teilweise oder gänzlich zerstört werden, mußte deren Berechnung mit frischen Proben der Proteine nach folgendem Verfahren ausgeführt werden.

Tyrosin: Folin und Marenzi (11).
Tryptophan: Tillmans und Alt (44).
Cystin: Folin und Marenzi (11).

Verdaulichkeit des Proteins in Nahrungsmitteln.

Bei der Bestimmung der Verdaulichkeit des Proteins z. B. in Fischmehlen usw. wurden von verschiedenen Autoren erhebliche Unterschiede in den Ergebnissen beobachtet, die zu einer Nachprüfung der Methoden durch Abderhalden (1) und Oshima (31) Veranlassung gaben.

Außer diesen Arbeiten wurde noch die Veröffentlichung von H. Wevers (47) berücksichtigt, da hier auf die Wichtigkeit der vorherigen Extraktion des vorhandenen Fettes hingewiesen wurde. Allen bekannten Methoden gemeinsam ist die Einwirkung von reinem Pepsin in salzsaurer Lösung auf feinverteiltes Versuchsmaterial während der Dauer von 44—48 Stunden bei einer Temperatur von 37—40°. Hierdurch versucht man den natürlichen Verdauungsvorgang im Körper nachzuahmen.

Als Material für die Verdauungsversuche wurden von anderer Seite feingemahlene getrocknete Garneelen, die an sich fettarm sind und Waalmehl mit einem Fettgehalt von etwa 25 % verwandt. Die Wahl des Materials geschah aus der Erwägung heraus, daß die unveränderte Aufbewahrung leicht war und dadurch die Werte jederzeit nachkontrolliert werden konnten.

Bei der Durchführung obiger Verdauungsproben zeigte es sich, daß die Ergebnisse bei den Versuchen nach Angabe der erwähnten Autoren in jeder Serie (jeder Versuch wurde mit 2 bzw. 4 Einzelproben durchgeführt) zwar sehr gut übereinstimmten, jedoch mit den betreffenden Werten anderer Forscher nicht in Einklang zu bringen waren.

Bei der Nachprüfung stellte sich dann heraus, daß das Umrühren (Abderhalden), bzw. das Umschütteln (Oshima) von größerer Wichtigkeit ist, als von den früheren Bearbeitern angenommen wurde. Wie jene Arbeiten zeigten, ergaben sich zwischen einem nicht und einem viermal während der Verdauungszeit umgeschüttelten Material Unterschiede bis zu 10 %. Diese Tatsache tritt bei der Abderhaldenschen Methode nicht so hervor, da hier bei dem verwendeten größeren Volumen mit weiten Bechergläsern gearbeitet wird, auf deren Boden die Substanz dünn ausgebreitet liegt.

Bei dem relativ kleinen Volumen der Oshima-Proben verwendet man durchweg hohe, schmale Erlenmeyerkolben mit stark eingewölbtem Boden, wodurch die Substanz in einem schmalen hohen Ring am Boden festliegt und wenig Angriffsfläche bietet. Zur Klärung der Differenz zwischen beiden Methoden wurde der p_H der Lösungen geprüft, außerdem bei der Oshima-Methode während der Verdauung nachkontrolliert. Ferner wurde von Wagner eine Serie mit gestaffelten Säurekonzentration durchgeführt. Dabei ergaben sich für die Abderhalden-Lösung p_H = 1,2 im Anfang und P = 0,9 nach dem zweiten Säurezusatz, während sich bei Oshima ein p_H = 0,9 ergab.

Alsdann wurde mit Garneelmehl eine Verdauungsserie durch Wagner (48) durchgeführt. Hierbei ergaben sich die günstigsten Werte bei einem Anfangs-p_H von 1,1 und einem End-p_H von 1,5. Um die Filtration zu beschleunigen wurde mit Büchnertrichter oder Nutsche gearbeitet. Zusätze anorganischer Natur zur Auflockerung des abzufiltrierenden Materials wie Filtergel und Bleicherde (Terrana) und Erhitzen der Flüssigkeit auf 90° C versagten, da sie einmal körperstickstoffhaltige Produkte absorbieren und andererseits bei der Erhitzung der Proben Koagulation eintrat, wodurch eine geringere Verdaulichkeit vorgetäuscht wurde. Dagegen beeinflußt ein Zusatz von feinzerfasertem Filterpapier (etwa 20 qcm) die Resultate nicht.

Diese Hilfmittel wurden aber überflüssig, wenn man einmal bei dem geringsten Vakuum, das zur Aufrechterhaltung einer guten Filtriergeschwindigkeit notwendig war, abnutschte und außerdem zum Auswaschen des unverdauten Restes eine Waschflüssigkeit verwandte, die be-

züglich Temperatur und Säurekonzentration möglichst der Verdauungsflüssigkeit angepaßt und jedesmal das 1,5fache der Menge der Verdauungsflüssigkeit zum Nachwaschen verwandt wurde. Wasser von Zimmertemperatur verhindert nach kurzer Zeit die Filtration und 80—90° heißes Wasser verändert die Werte so, daß sie dann durchweg zu hoch ausfallen.

Auf Grund dieser Versuche gibt Wagner (48) die folgende Arbeitsvorschrift, die auch ich benutzte:

„In einem 300 ccm Erlenmeyerkolben wird 1 g Pepsin „Merck reinst" in 150 ccm 0,1 n Salzsäure gelöst und 2 g (genau gewogen) Substanz (Mehl usw.) zugesetzt. Die Flasche wird mit einem Korkstopfen lose verschlossen 44—48 Stunden in einem Brutschrank bei 37—40° gehalten. Zu beachten ist dabei, daß mindestens 15mal während dieser Zeit in möglichst regelmäßigen Abständen gut umgeschüttelt wird. Zu empfehlen ist daher die Verwendung eines langsam laufenden Rühr- oder Schüttelwerkes. Am Schluß der Verdauung wird die Lösung unter möglichst geringem Vakuum durch ein stickstoffreies Filter abgesaugt und mit 200 ccm 40—45° warmer 0,1 n Salzsäure ausgewaschen. Der feuchte Rückstand wird dann mitsamt dem Filter nach Kjeldahl zur Bestimmung des unverdaulichen Proteins mineralisiert.

Wagner meint ferner, daß eine Entfettung der Materialien dabei nicht nötig sei, da nach seinen Versuchen die Werte dadurch nicht beeinflußt würden, ein Zusatz von Toluol sei nur schädlich (Oshima) und müsse deshalb wegfallen.

Nach dem oben beschriebenen Verfahren von Wagner wurde von mir die Verdaulichkeit von Mehlen aus

Lathyrus sativus,
Trigonella Foenum Graecum,
Sorghum vulgare und Eleusine Covacana
bestimmt.

Hierbei erhielt ich folgende chemische und biologische Ergebnisse:

Tabelle I.

Der Prozentgehalt an Stickstoff und Eiweiß der Nahrungsmittel war folgender:

Name des Nahrungsmittels	% Stickstoff	% Eiweiß
Lathyrus sativus	4,3	26,88
Trigonella Foenum Graecum	3,49	21,81
Sorghum vulgare	1,45	9,06
Eleusine coracana	0,98	6,33

Tabelle II.

Der Stickstoffgehalt der Futtermittel, die aus obigen Nahrungsmitteln hergestellt wurden, ist folgender:

Name des Futtermittels: (Bereitung siehe S. 12)	% Stickstoff
Futter ohne Proteine bei 5 %igem Ausgleich	0,078
Futter ohne Proteine bei 10 %igem Ausgleich	0,096
Futter mit Lathyrus-sativus-Mehl	1,78
Futter mit Trigonella-Foenum-Graecum-Mehl	1,71
Futter mit Sorghum vulgare Mehl	0,85
Futter mit Eleusine-coracana-Mehl	0,80
Futter mit dem Globulin von Lathyrus-sativus-Mehl	1,54

I. Die chemische Untersuchung und Bestimmung des biologischen Nährwertes von Trigonella Foenum Graecum.

Faenugraek (Trigonella Foenum Graecum, Bockshornklee oder griechisches Heu) ist eine einjährige Leguminose, die in großem Maße in Indien angebaut wird. Die Blätter der jungen Pflanze werden als Grüngemüse verwendet, während der Samen als Würze geschätzt ist und einen wesentlichen Bestandteil vieler indischer Präparate bildet, er wird auch in der indischen Medizin wegen seiner stärkenden, zusammenziehenden und erweichenden Wirkungen geschätzt. Neuerdings sind seine medizinischen Verwendungsmöglichkeiten weitgehend erforscht worden. Festgestellt wurde z. B., daß Trigonella als Ersatz für Lebertran bei Rachitis, Anaemie und Schwächezuständen angewendet werden kann. Beim Verbrennen hinterläßt der Samen ungefähr 7 % Asche, die reich an Phosphorsäure ist (25 % des Gewichts der Asche). Reutter hat in dem Samen das Vorhandensein verschiedener Basen, wie Cholin, Trigonellin, Methylamin, Neurin und Betain festgestellt, die aus der Spaltung des Lezithins herrühren.

Durch Vorversuche war von mir schon festgestellt worden, daß durch eine 6 % ige Kochsalzlösung die größtmögliche Menge Stickstoffsubstanz ausgezogen werden konnte und zwar etwa 40 % der Gesamtmenge des in Form von Globulin und Albumin vorhandenen Stickstoffs. 70 % iger Alkohol zog 5 % des Gesamtstickstoffs als Prolamin heraus.

Das Globulin ist seinerzeit von mir gemeinsam mit Sreenivasaya (34) isoliert und ebenfalls analysiert worden und das Prolamin durch mich, Sastri und Narayana (36).

Der Schleim von Foenum Graecum wurde von Daoud (8) und unabhängig von ihm von Harihara Iyer und Sastri (12) untersucht.

Das Foenum Graecum Mehl ist hellgelb und ergab bei der Analyse folgende Werte (in %) berechnet auf die Trockensbustanz. Diese Arbeit, die von mir gemeinsam mit Sreenivasaya (34) ausgeführt wurde, ist schon veröffentlicht worden. Die dort erhaltenen Werte seien auszugsweise in Tabellen III bis VII angegeben.

Tabelle III.

Asche:	Aether-extrakt	Rohes Protein	Stärke	Zellulose	Lignin	andere Kohlehydrate
3,55	8,10	29,9	2,11	21,0	2,23	33,02

Tabelle IV.

Untersuchung des Proteins von Foenum Graecum Mehl

Protein:	Feuchtigkeit:	Asche:	Asche und wasserfreies Protein		
			N	P[1])	S[2])
Globulin	4,74	0,50	17,2	—	0,14
Albumin	7,96	0,90	15,91	0,31	0,29

Tabelle V.

Verteilung des Stickstoffs auf die verschiedenen N-Substanzen (% des Gesamt-Stickstoffs).

Art des Stickstoffs:	Globulin:	Albumin:
Melanin	0,6	1,8
Amid-N	6,8	7,2
„Basischer Stickstoff“	42,0	30,4
Arginin	21,2	18,7
Histidin	18,5	4,7
Cystin	0,4	0,9
Lysin	1,9	6,1
„Nichtbasischer Stickstoff“	48,9	58,9
Amino-N	47,0	57,1
Nicht-Amino-N	1,9	1,8

In der folgenden Tabelle werden die wesentlichen Aminosäuren im Globulin und Albumin des Foenum Graecum angegeben. Sie sind als Hundertteile des Proteins frei von Asche und Feuchtigkeit berechnet.

Tabelle VI.

Name der Aminosäuren:	Globulin:	Albumin:
Lysin	1,7	4,9
Histidin	11,6	2,8
Arginin bestimmt nach Vanslyke)	11,2	9,3
Arginin (direkt bestimmt)	12,4	10,5
Cystin	0,6	1,2
Tyrosin	5,7	2,1
Tryptophan	0,5	Spuren

[1]) Mikromethode von Pregl.
[2]) Mikro-Verbrennungsmethode von Carius.

Das Globulin ist gekennzeichnet durch einen überraschend hohen Gehalt an Histidin, der ungefähr fünfmal so groß ist wie er gewöhnlich in den typischen Globulinen pflanzlicher Herkunft enthalten ist. Die ausgezeichneten und anerkannten tonischen Eigenschaften des Samens dürften vielleicht hiermit im Zusammenhang stehen, da das Histidin bekanntlich auch ein wesentlicher Bestandteil des Blut-Haemoglobins ist. Das Albumin ist deshalb interessant, weil es sowohl Schwefel als auch Phosphor enthält. Dieses Moment ist bis jetzt noch nicht hervorgehoben worden.

Tabelle VII.

Fütterungsversuche mit Foenum Graecum Mehl.

Versuchsdauer je 10 Tage, über die Ausführung der Versuche und Zusammensetzung des Futters siehe Seite 12.

Nr. der Ratte	I. Fütterungsperiode (10 Tage) mit Futter ohne Eiweiss		II. Fütterungsperiode (10 Tage) Futter m. Foenum Graecum Mehl	
	Anfangsgewicht g	Endgewicht g	Anfangsgewicht g	Endgewicht g
1	84	73	72	74
2	105	92	89	87
3	134	118	117	118
4	99	90	93	102
5	105	97	95	96
6	87	75	70	68

Tabelle VIII.

Futtermenge in g (ohne Protein), die je Tag gefressen wurde.

Nr. der Ratte	Tage 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	Durchschnitt
1	7,8	7,9	7,15	5,6	7,15	4,5	6,8	6,70
2	8,12	10,1	7,3	8,97	8,98	7,1	7,1	8,12
3	10,48	11,9	10,8	11,45	11,65	9,8	8,35	10,48
4	8,1	8,48	11,0	7,4	7,0	9,6	9,8	8,48
5	11,5	9,58	10,0	11,0	10,0	7,8	8,1	9,58
6	8,7	8,60	9,0	8,9	8,14	7,05	7,4	8,14

Tabelle IX.

Futtermenge in g mit Foenum Graecum Mehl, die je Tag gefressen wurde.

Nr. der Ratte	Tage 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	Durchschnitt
1	4,7	5,88	5,8	6,04	5,88	6,0	7,98	6,04
2	6,35	6,71	7,5	7,45	5,23	7,0	6,70	6,71
3	7,67	9,30	8,25	7,73	8,51	9,0	9,18	8,51
4	8,44	8,20	8,60	8,63	6,30	9,48	9,40	8,44
5	7,00	7,18	6,12	7,23	7,50	8,57	7,00	7,23
6	6,70	6,80	6,00	4,72	6,00	6,72	5,05	6,00

Berechnung des biologischen Nährwertes aus obigen Werten siehe Seite 11, Tabelle XXXI.

II. Die chemische Untersuchung und Bestimmung des biologischen Nährwertes von Lathyrus sativus.

Lathyrus sativus (oder die Acker-Blatterbse), in der indischen Landessprache als „Khesari" bekannt, ist eine einjährige Leguminose, die in großem Umfange in Mittel- und Nordindien angebaut wird und einen Teil der volkstümlichen Nahrungsmittel bildet. Diese Hülsenfrucht wird gewöhnlich in der kalten Jahreszeit auf den schweren Böden ausgesät, z. T. auf Reisfeldern und besonders in Landstrichen, die während der Regenzeit unter Wasser stehen. Das Khesari liefert einen großen Teil des vom Volke benötigten Proteins und bildet in Hungersnotzeiten sogar den Hauptbestandteil der Nahrung. Unter diesen Umständen trat als weitverbreitete Krankheit oft eine Art Paralyse, die unter dem Namen Lathyrismus bekannt ist, auf. Die Zahl der Krankheitfälle steigt an, wenn sich die Hungersnot vergrößert und dann der Anteil dieses Nahrungsmittels in der Kost gesteigert wird. Es besteht die Ansicht, daß diese Krankheit von Lathyrus sativus erzeugt wird, da diese Samen Alkaloide enthalten. Buchanan (5) und andere Forscher in Indien haben in eingehenden Arbeiten die geschilderten Zusammenhänge näher untersucht. Bei dieser Gelegenheit sei auch auf die von Stockmann (41) veröffentlichte Bibliographie der Literatur über den Lathyrismus verwiesen.

Ritthausen (38) zeigte in einer Reihe von Arbeiten, daß auch der Samen von Vicia sativa einen stickstoffhaltigen Körper enthält, den er Vicin nennt, er wurde zuerst als ein Alkaloid angesehen. Später stellte sich jedoch heraus, daß er ein Glykosid ist, welches bei der Hydrolyse mit Schwefelsäure eine Base, Divin, und d-Glukose lieferte.

Bertrand und Weißweller (6) und später Mirande (25) zeigten, daß der Samen von Vicia sativa variatio angustifolia ebenfalls ein Cyanogen-Glykosid enthält, das eng mit dem Amygdalin verwandt ist und das Vicianin benannt wurde. Neuerdings hat Steyn (42) berichtet, daß Vicia sativa 64.8 mg HCN je 100 g bei der Hydrolyse abgeben kann. Er hat auch die anorganischen Bestandteile untersucht, sowie den Fett- und Proteingehalt der Samen festgestellt und erklärt, daß die frischen Pflanzen vor und während der Blütezeit für Pferde giftig seien, wenn sie ohne jedes zusätzliche Futter gefressen würden. Rinder, Schafe und Kaninchen verzehrten verhältnismäßig große Mengen der Pflanze ohne jede üble Wirkung. Das Aktivprinzip von Lathyrus sativus ist bisher nicht bekannt.

Howard, Anderson und Simonsen (16) stellten eingehende Untersuchungen über den Lathyrismus an. Sie zeigten, daß reine Samen von Lathyrus sativus harmlos sind und daß die schädliche Wirkung durch ein verunreinigendes Leguminosen-Unkraut „Akta" hervorgerufen wird, das eine Base mit alkaloiden Eigenschaften enthält. Trotzdem ist die Frage des Lathyrismus noch nicht gelöst. Das Globulin von Lathyrus sativus ist seinerzeit von mir nach 2 verschiedenen Verfahren isoliert worden, durch Dialyse und durch die Verdünnungsmethode. Die Ergebnisse der Analyse des nach dem Verdünnungsverfahren isolierten Globulins und des Albumins sind von mir (35) bereits veröffentlicht worden. Einige Ergebnisse seien auszugsweise in Tabelle X nochmals wiedergegeben.

Tabelle X.

Proteine aus Lathyrus sativus.

	Globulin hergestellt durch Verdünnungsmethode:	Dialyse	Albumin
Gesamtstickstoff	16,8 %	17,0 %	16.38 %
Asche	0,32 %	0,34 %	0,20 %
Phosphor [1]	0,10 %	0,14 %	—
Schwefel [2]	0,44 %	0,42 %	0,88 %

Tabelle XI.

Verteilung des Stickstoffs (in % vom Gesamtstickstoff

Art des Stickstoffs	Globulin hergestellt durch Verdünnungsmethode:		Dialyse		Albumin
säurelösliches Melanin	0,27		0,24		1,03
säureunlösliches Melanin	0,27		0,24		1,66
Amid-Stickstoff	9,56		9,86		7,65
basischer Stickstoff	35,70		35,74		29,25
Arginin		14,92		14,90	
Histidin		9,93		9,99	
Cystin		0,17		0,15	
Lysin		10,68		10,70	
nichtbasischer Stickstoff	52,16		53,01		60,44

Tabelle XII.

Verteilung der wesentlichen Aminosäuren (% Protein)

Aminosäure	Globulin hergestellt durch Verdünnungsmethode:	Dialyse	Albumin
Arginin	7,79	7,75	7,60
Histidin	6,15	6,19	—
Cystin	1,70	1,68	3,31
Lysin	9,27	9,31	—
Tyrosin	3,10	3,20	3,42
Tryptophan	0,78	0,82	0,58

[1]) Bestimmt nach der Mikromethode von Pregl.
[2]) Bestimmt nach der Mikroverbrennungsmethode von Carius.

Tabelle XIII.

Fütterungsversuche mit Lathyrus sativus Mehl.

Versuchsdauer je 10 Tage. Über die Ausführung der Versuche und Zusammensetzung des Futters siehe Seite 12.

Nr. der Ratte	I. Fütterungsperiode (10 Tage) mit Futter ohne Protein		II. Fütterungsperiode (10 Tage) mit Futter mit Lathyrus sativus	
	Anfangsgewicht	Endgewicht	Anfangsgewicht	Endgewicht
	g	g	g	g
1	84	73	76	75
2	105	92	93	93
3	134	118	118	120
4	99	90	95	94
5	105	97	96	95
6	87	75	77	73

Tabelle XIV.

Fütterungsversuch mit Futter ohne Protein, Futtermenge gefressen je Tag (in g).

Nr. der Ratte:	Tage: 1	2	3	4	5	6	7	Durchschnitt
1	7,48	7,08	7,90	7,10	7,20	5,60	4,50	6,70
2	9,04	9,18	7,30	8,95	9,00	7,10	7,10	8,12
3	11,40	10,98	10,80	11,10	12,00	9,80	8,35	10,48
4	8,40	8,28	11,00	10,80	10,00	7,40	7,00	8,58
5	10,32	10,76	10,00	10,20	10,80	7,80	8,10	9,58
6	8,24	8,60	8,60	8,90	8,00	7,05	7,40	8,14

Tabelle XV.

Fütterungsversuch mit Lathyrus sativus Mehl, Futtermenge gefressen je Tag (in g):

Nr. der Ratte:	Tage: 1	2	3	4	5	6	7	Durchschnitt
1	7,70	6,60	6,59	5,20	4,60	5,95	6,00	6,09
2	9,70	8,10	8,55	7,05	8,55	7,20	7,90	8,15
3	9,35	9,48	9,60	10,50	7,30	7,50	10,60	9,18
4	9,40	8,80	6,30	9,30	7,35	7,05	7,80	8,00
5	8,70	8,90	8,94	9,60	7,60	7,30	7,35	8,34
6	5,40	6,10	6,68	7,55	6,10	5,90	5,55	6,18

Aus Tabelle XI geht hervor, daß das nach dem Dialyseverfahren aus dem Samen von Lathyrus sativus gewonnene Globulin in seiner chemischen Zusammensetzung mit dem nach dem Verdünnungsverfahren erhaltenen übereinstimmt. Das Globulin hat einen höheren Gehalt an Stickstoff als das Albumin. Der Tyrosingehalt ist ungefähr der gleiche, während die Tryptophanmenge geringer ist, sowohl im Globulin als auch im Albumin von Lathyrus sativus. Berechnung des biologischen Nährwertes aus obigen Werten siehe Tabelle XXXII Seite 42.

III. Die chemische Untersuchung und Bestimmung des biologischen Nährwertes von Eleusine indica var. coracana.

Eleusine coracana, indische Fingerhirse oder Kreuzgras. Diese zu den Gramineen gehörige Pflanze (in Süd-

indien „Ragi“ und in Nordindien „Marua“ oder „Koda“ genannt) wächst überall in Indien. Die Samen bilden ein wichtiges Nahrungsmittel, besonders für die ärmeren Klassen im Staate Mysore. Das Samenmehl ist ziemlich schwer verdaulich, geschmacklos, aber von hohem Nährwert. Es eignet sich besonders für die schwerarbeitenden Volksschichten. Aus ihm hergestellte Fladen werden trocken gegessen oder als Brei sowie Grütze genossen. Wegen der Billigkeit und des Nährwertes ist es ein wirtschaftliches Nahrungsmittel. Es bildet einen Hauptteil der Kost der Gefangenen in einigen indischen Gefängnissen. Auch medizinisch wird eine Abart in Oberindien „Makra“ genannt, verwendet und zwar soll diese bei Nierenkrankheiten schmerzlindernd wirken. Außerdem werden die Samen und die krautigen Teile der Pflanze in der Form eines Dekoktes äußerlich zur Heilung von Geschwüren angewandt. Ich habe bei den Versuchen mittels 4 %iger Kochsalzlösung und 70 %igem heißem Alkohol etwa 22 % des gesamten Stickstoffs aus dem „Ragi“ ausgezogen. Es war nicht möglich, das in dem Samen zurückbleibende Protein mit Hilfe verdünnter Natronlauge auszulaugen. Das hauptsächliche Protein in diesem Samen ist ein Prolamin. Dieses wurde von mir nach den schon beschriebenen Verfahren isoliert und analysiert.

Tabelle XVI.

Verteilung des Stickstoffs, ausgedrückt in % vom gesamten N.

Art des Stickstoffs	Prolamin aus Ragi	Prolamin aus Foenum Graecum[1])
säureunlösliches Melanin	0,41	0,9
säurelösliches Melanin	1,12	0,4
Amid-Stickstoff	23,00	20,2
basischer Stickstoff	6,30	5,8
Arginin	2,25	3,10
Histidin	2,26	0,70
Cystin	0,46	1,40
Lysin	1,33	0,70
nichtbasischer Stickstoff	69,17	72,7

Tabelle XVII.

Verteilung der wesentlichen Aminosäuren (% Protein).

Art des Stickstoffs	Prolamin aus Ragi	Prolamin aus Foenum Graecum[1])
Arginin	2,44	2,30
Histidin	1,39	0,40
Cystin	2,50	3,00
Lysin	0,46	0,50
Tyrosin	5,20	4,30
Tryptophan	1,70	2,40

[1]) Bereits früher von mir gemeinsam mit Sastri und Narayana veröffentlicht (loc. cit.). Vergleichsweise hier nochmals angeführt.

Tabelle XVIII.

Fütterungsversuche I mit Futter ohne Eiweiß und II mit Futter mit Eleusine coracana Mehl. Anfangs- und Endgewicht in g nach der Versuchsdauer von 10 Tagen.

Nr. der Ratte	I. Fütterungsperiode mit Futter ohne Eiweiss		II. Fütterungsperiode mit Futter mit Eleusine coracana Mehl	
	Anfangsgewicht g	Endgewicht g	Anfangsgewicht g	Endgewicht g
1	63	58	71	66
2	81	71	85	83
3	105	94	99	107
4	94	83	89	100
5	91	78	98	94
6	62	56	68	67

Tabelle XIX.

Fütterungsversuche mit Futter ohne Eiweiß, Futtermenge gefressen je Tag (in g):

Nr. der Ratte:	Tage 1	2	3	4	5	6	7	Durchschnitt
1	6,35	4,18	5,98	6,00	3,20	3,79	4,00	4,79
2	6,30	3,50	4,00	5,62	2,75	3,03	3,00	4,03
3	8,12	3,65	5,00	5,52	2,58	3,62	4,03	4,65
4	6,65	4,17	5,85	5,10	3,45	3,20	4,50	4,70
5	5,15	2,38	4,10	4,00	2,23	2,50	3,04	3,34
6	5,60	3,55	5,70	4,90	3,65	4,25	4,32	4,57

Tabelle XX.

Fütterungsversuch mit Futter mit Eleusine coracana Mehl, Futtermenge gefressen je Tag (in g):

Nr. der Ratte:	Tage 1	2	3	4	5	6	7	Durchschnitt
1	7,95	7,73	7,00	4,95	6,00	6,02	6,00	6,52
2	8,55	8,00	8,38	6,25	6,63	6,80	7,67	7,47
3	5,85	6,80	7,52	7,00	8,25	8,50	7,90	7,40
4	7,10	9,60	9,68	9,26	10,62	11,20	10,51	9,71
5	6,67	6,58	7,00	7,05	5,00	6,04	6,05	6,34
6	8,23	7,68	5,98	8,00	6,85	6,72	6,40	7,12

Berechnung des biologischen Nährwertes aus obigen Ergebnissen siehe Tabelle XXXIII, Seite 43.

IV. Die chemische Untersuchung und Bestimmung des biologischen Nährwertes von Cholam.

Cholam (Sorghum vulgare, Gramineae. Sorghum-Hirse, Durragras). Andropogon sorghum.

Diese Pflanze wird in vielen Teilen Indiens angebaut. Ihre Samen bilden wie das Ragi einen bedeutenden Be-

standteil in der Nahrung vieler Bewohner Indiens. Die getrocknete Pflanze dient auch als sehr gutes Futter für Rinder. Die junge grüne Pflanze ist für das Rind sehr giftig. Eine Anzahl Forscher haben nachgewiesen, daß Spuren von HCN darin enthalten sind. Der Samen von Sorghum vulgare enthält als hauptsächliches Protein ein Prolamin, das nach den auf Seite 20 beschriebenen Methoden von mir isoliert und physiologisch untersucht wurde.

Tabelle XXI.

Verteilung des Stickstoffs im Sorghum vulgare Mehl, ausgedrückt in % vom gesamten Stickstoff.

Art des Stickstoffs:	Prolamin aus Sorghum vulgare	
säureunlösliches Melanin	0,60	
säurelösliches Melanin	1,20	
Amid-Stickstoff	23,40	
basischer Stickstoff	10,20	
Arginin		3,75
Histidin		3,40
Cystin		0,60
Lysin		2,27
nichtbasischer Stickstoff	64,38	

Tabelle XXII.

Fütterungsversuche mit Futter ohne Eiweiß und mit Futter mit Sorghum vulgare Mehl, Anfangs- und Endgewicht, ausgedrückt in g nach einer Versuchsdauer von je 10 Tagen.

Nr. der Ratte:	I. Fütterungsperiode mit Futter ohne Eiweiss		II. Fütterrungsperiode mit Futter mit Sorghum vulgare Mehl	
	Anfangsgewicht	Endgewicht	Anfangsgewicht	Endgewicht
	g	g	g	g
1	63	58	74	66
2	81	71	86	82
3	105	94	111	114
4	94	83	93	98
5	91	78	93	97
6	62	56	68	63

Tabelle XXIII.

Fütterungsversuche mit Futter ohne Eiweiß, Futtermenge gefressen je Tag (in g):

Nr. der Ratte:	Tage							
	1	2	3	4	5	6	7	Durchschnitt
1	5,36	5,37	3,10	4,18	6,35	5,99	3,10	4,79
2	6,30	3,50	4,82	4,63	4,20	2,55	2,20	4,03
3	8,12	3,65	5,42	4,90	4,85	2,48	3,10	4,65
4	4,17	4,65	4,90	3,10	5,85	5,10	3,28	4,70
5	4,45	4,04	2,38	4,10	4,00	2,23	2,20	3,34
6	5,40	4,77	3,55	5,32	5,28	3,55	4,10	4,57

Tabelle XXIV.

Fütterungsversuche mit Futter mit Sorghum vulgare Mehl, Futtermenge gefressen je Tag (in g):

Nr. der Ratte:	Tage 1	2	3	4	5	6	7	Durchschnitt
1	7,50	8.45	9,00	8,02	7,02	7,15	1,50	6,95
2	7,84	7,18	8,00	8,18	7,18	8,07	3,55	7,14
3	11,35	10,57	11,68	12,10	8,28	9,10	7,42	10,07
4	11,18	11,23	11,75	12,20	11,88	10,92	8,62	11,11
5	10,03	9,91	10,95	12,05	8,50	8,45	6,55	9,51
6	7,83	7,96	11,05	10,30	7,88	4,20	2,20	7,36

Berechnung des biologischen Nährwertes aus obigen Ergebnissen siehe Tabelle XXXIV Seite 44.

Besprechung der Ergebnisse.

Lathyrus sativus, die Ackerblatterbse, hat einen größeren Gehalt an basischem Stickstoff als Foenum Graecum, während Eleusine coracana und Sorghum vulgare nur einen sehr geringen Gehalt an basischem Stickstoff haben, was für Prolamin charakteristisch ist.

Der Histidingehalt von Foenum Graecum ist etwa doppelt so groß wie der von Lathyrus sativus und ist etwa dreimal größer als in irgendeinem bisher untersuchten Globulin pflanzlicher Herkunft.

Foenum Graecum, Eleusine coracana und Sorghum vulgare haben ungefähr den gleichen Tyrosingehalt, der von Lathyrus sativus ist niedriger.

Es ist bemerkenswert, daß die Ceralien Eleusine coracana und Sorghum vulgare einen etwa dreimal so hohen Gehalt an der wesentlichen Aminosäure, Tryptophan, haben wie Foenum Graecum und Lathyrus sativus.

Andererseits ist es auffallend, daß Lathyrus sativus etwa 10 % Lysin-Stickstoff enthält, während die anderen drei untersuchten Nahrungsmittel eine geringere Menge an dieser wachstumfördernden Aminosäure enthalten.

Der durchschnittliche biologische Nährwert der einzelnen von mir untersuchten Nährstoffe sei im Folgenden vergleichshalber nochmals in Tabellenform wiedergegeben:

Tabelle XXV.

Name des Nährstoffes	Biologischer Nährwert in %
Lathyrus sativus	58
Foenum Graecum	61
Eleusine coracana	91
Sorghum vulgare	77
Globulin aus Lathyrus sativus	51

Die obigen Ergebnisse beweisen, daß Eleusine coracana den höchsten biologischen Nährwert hat und Lathyrus

sativus und das Globulin aus Lathyrus sativus den niedrigsten. Obwohl Lathyrus sativus und Foenum Graecum die meisten Aminosäuren in biologisch besserem Verhältnis enthalten als Eleusine coracana oder Sorghum vulgare, haben sie doch einen geringeren biologischen Nährwert. Das wird von dem geringen Tryptophangehalt in diesen beiden Nahrungsmitteln herrühren.

Niogi, Narayana und Desai (28) haben den biologischen Nährwert des aus Eleusine coracana isolierten Proteins untersucht und fanden dafür 90,5 %.

Zagami und Famiani (51) haben einige Leguminosen und Ceralien in derselben Richtung vergleichsweise untersucht. Im Folgenden eine kurze Beschreibung ihrer Ergebnisse:

Im Rattenversuch wurden gefunden, daß bei einseitiger Ernährung mit Leguminosen, Wachstum, Entwicklung und Fortpflanzung weniger gefördert wurden als bei gemischter Nahrung. Noch weniger bei der Ernährung mit Ceralien. Gewichtszunahme bei Männchen und Weibchen 411 und 165 % (Gemischte Nahrung), 172 und 86 % (Lathyrus sativus L.), 165 und 88 % (Ervum Lens L.), 141 und 39 % (Hordeum vulgare), 109 und 30 % (Zea Mays), 106 und 26 % (Triticum sativum), 106 und 32 % (Oryza sativa) in 60 Tagen.

Diese Ergebnisse liefern einen Hinweis für das Maß der qualitativen Unvollständigkeit dieser Produkte bei einer ausschließlich einseitigen Ernährung. In ähnlicher Weise verschieden wirkten jene Produkte in Versuchen an Tauben hinsichtlich Wiederherstellung des Körpergewichtes nach Hungerperioden; auch hierbei wirkten die Leguminosen günstiger (geringerer Verbrauch) als die Ceralien.

Die Verdaulichkeit der von mir untersuchten Nahrungsmittel.

Die Verdaulichkeit der Nahrungsmittel Lathyrus sativus, Foenum Graecum, Eleusine coracana und Sorghum vulgare wurde von mir nach dem Wagnerschen Verfahren bestimmt, dessen Einzelheiten schon auf S. 25 wiedergegeben worden sind.

Tabelle XXVI.

Name des Nahrungsmittels	% verdauliches Eiweiss	% unverdauliches Eiweiss
Lathyrus sativus	95,85	4,15
„ „	95,78	4,21
Foenum Graecum	89,70	10,30
„ „	89,68	10,32
Sorghum vulgare	84,83	15,17
„ „	84,80	15,20
Eleusine coracana	81,11	18,89
„ „	81,07	18,93

Aus der obigen Tabelle ergibt sich, daß Eleusine coracana den größten Hundertsatz an unverdaulichem Eiweiß hat, dann Sorghum vulgare, Foenum Graecum und schließlich Lathyrus sativus, das den kleinsten Hundertsatz aufweist. Andererseits zeigt der Fütterungsversuch, daß der biologische Nährwert (siehe Tabelle XXV, S. 35) von Eleusine coracana der höchste ist, dann folgen Sorghum vulgare, Foenum Graecum und Lathyrus sativus.

II. Phosphor in pflanzlichen Proteinen.

Die Art der Bestimmung des Phosphors in den Globulinen der Vicia Sativa var. angustifolia (Akta) wurde bereits früher von mir (35) studiert und darüber an anderer Stelle berichtet. Wie weiter unten angegeben, habe ich mich jetzt erneut mit dieser Frage beschäftigt.

Es ist schon auseinandergesetzt worden, daß dieser Same als Verunreinigung des Samens von Lathyrus sativus vorkommt, und daß er, wie von mehreren Forschern festgestellt wurde, für die als Lathyrismus bekannte Krankheit verantwortlich zu machen ist.

Das aus dem Samen der Akta nach den beiden Verfahren der Dialyse und Verdünnung hergestellte Globulin enthielt verschiedene Mengen Phosphor. Es war daher von Interesse zu untersuchen, ob der Phosphor in organischer Bindung, oder nur als Verunreinigung in dem Globulin enthalten ist. Zu Klärung der Sachlage wurde das Globulin aus dem Samen der „Akta" mit Ammoniumsulfat fraktioniert ausgefällt, wobei eine Albumin- und vier Globulinfraktionen gewonnen wurden.

Die Ergebnisse waren folgende:

Tabelle XXVII.

Fraktion	% Stickstoff	% Phosphor
I	16,60	—
II	16,90	—
III	17,19	—
IV	17,32	—
Albumin	6,86	10,14

Es zeigt sich, daß die 4 Globulinfraktionen phosphorfrei waren, während des Albumin 6,86 % Stickstoff und 10,14 % Phosphor enthielt. Es war sehr auffallend, daß das Albumin einen sehr niedrigen Stickstoff und einen sehr hohen Phosphorgehalt besaß. Um weiter in die Frage des Phosphors in diesem Albumin einzudringen, wurde es von mir nach folgendem Verfahren nochmals hergestellt.

Herstellung des phosphorhaltigen Albumins aus dem Samen der Vicia sativa var. angustifolia („Akta").

1 kg Akta-Mehl wurde von mir durch $^1/_2$ stündiges Schütteln mit 3 l 6 %iger Kochsalzlösung ausgezogen und dann durch ein Tuch koliert. Der Rückstand wurde nochmals in gleicher Weise mit 1 $^1/_2$ l der Kochsalzlösung derselben Konzentration behandelt. Die vereinigten Auszüge wurden dann durch ein Papierfilter filtriert und das klare Filtrat (3,5 l) wie aus der Tabelle XXVIII ersichtlich mit einer steigenden Menge festen Ammoniumsulfats versetzt. Die einzelnen Fällungen, die bei verschiedenen Konzentrationen ausfielen, wurden nochmals in möglichst wenig Wasser gelöst und wieder in derselben Konzentration mit Ammoniumsulfat gefällt, dann in 2 %iger Kochsalzlösung aufgelöst, dialysiert, bis sie frei von Salzen und Sulfaten waren und die dabei entstehende Fällung abfiltriert, mit Alkohol und Äther gewaschen und getrocknet.

Tabelle XXVIII.

Die Konzentrationsverhältnisse, unter denen die verschiedenen Fraktionen ausgeschieden werden.

Ammonsulfat-Gehalt in %	Ausbeute in g an Globulin Fraktionen nach der oben angegebenen Dialyse	Färbung der Globulin-Fraktion
27,8	7	Aschgrau
31,2	3,5	Leichtrosa
36,4	10,5	„ „
40,1	12,4	Blassgelb
50,0	kein Niederschlag	
75,0	„ „	
100,0	„ „	

Das nach der Ausfällung der Globulinfraktionen mit Ammoniumsulfat schließlich erhaltene Filtrat wurde dialysiert, bis es frei von Ammoniumsulfat war, alsdann mit wenigen ccm Eisessig versetzt und das sich hierbei ausscheidende Albumin durch Erwärmung auf dem Wasserbade koaguliert. Die überstehende Flüssigkeit wurde abgehebert und der Rückstand zentrifugiert. Das Albumin wurde in 2 %iger Kochsalzlösung aufgelöst, wieder dialysiert und aus dem Dialysat erneut durch Behandlung mit Eisessig ausgefällt. Diese so ausgeschiedene Fällung wurde abzentrifugiert und mit Wasser, das mit Eisessig angesäuert war, ausgewaschen. Zum Schlusse wurde mit Alkohol verschiedener Konzentration und mit Äther gewaschen und getrocknet. Erhalten wurden auf diese Weise aus 1 kg Akta-Mehl 0,8 g eines hellweißen Pulvers.

Die Globulin- und Albuminfraktionen wurden auf ihren Stickstoff- und Phosphorgehalt untersucht. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

Tabelle XXIX.

Der Phosphor- und Stickstoffgehalt ist ausgedrückt in % und auf asche- und wasserfreies Protein berechnet.

Fraktion	% Phosphor	% Stickstoff
I Globulin	kein Phosphor	16,80
II Globulin	„ „	17,00
III Globulin	„ „	17,09
IV Globulin	„ „	17,24
V Albumin [1. Versuch]	10,14[1])	6,86[1])
V Albumin [2. Versuch]	2,09[1])	10,71[1])

Die 4 Globulinfraktionen I—IV wurden alsdann von mir nach dem Vanslykeschen (45) Verfahren in der Modifikation von Plimmer und Rosedale (33) analysiert. Die Ergebnisse sind in der nächsten Tabelle angegeben.

Tabelle XXX.

Form des Stickstoffs	% Gesamtstickstoffgehalt Fraktion I	II	III	IV
säureunlösliches Melanin	0,95	0,45	0,55	1,21
säurelösliches Malanin	0,53	0,33	0,60	0,07
Amid - N	10,26	10,74	10,67	10,20
Basischer Stickstoff	19,74	30,56	26,79	27,35
Nichtbasischer Stickstoff	67,53	57,02	61,97	60,97

Aus der Tabelle XXIX ist ersichtlich, daß die 4 Globulinfraktionen frei von Phosphor sind und daß die jetzt von mir hergestellten Albumine einen geringeren Phosphorgehalt haben als die seinerzeit von mir unter denselben Bedingungen hergestellten Albumine (siehe Tabelle XXVII). Daraus kann man schließen, daß der Phosphor nur als Verunreinigung vorhanden ist.

Das Albumin, Tabelle XXIX, V wurde verascht und dabei 6,05 % Asche festgestellt. Die Asche wurde mit verdünnter HNO_3 extrahiert und qualitativ analysiert. Das Ergebnis der qualitativen Analyse war das Vorhandensein von Ammonium und Phosphorsäure.

Um die Anwesenheit von anorganischem Phosphor zu beweisen, wurden folgende Versuche ausgeführt:

Eine kleine Menge des obigen Albumins (aus Akta-Samen) wurde mit einigen ccm verdünnter HNO_3 gekocht und filtriert. Zu dem Filtrat gab ich 5 ccm 50 %ige Ammonnitratlösung und 2 ccm Ammonmolybdatlösung und erwärmte auf einem Wasserbad auf 60°. Nach kurzer Zeit schlug sich Ammoniumphosphormolybdat nieder. Den Niederschlag löste ich in etwas überschüssiger Natronlauge und kochte zum Vertreiben des Ammoniaks, neutra-

[1]) ausgerechnet auf wasserfreies Protein ohne Berücksichtigung des Aschegehaltes.

lisierte die Lösung und gab einige ccm $AgNO_3$ hinzu. Es entstand ein gelber Niederschlag von Silberphosphat. Dies ist der Beweis für das Vorhandensein anorganischen Phosphors in dem Albumin.

Aus diesem Versuch kann man schließen, daß das vorhandene Ammoniumphosphat von den Albuminen bei ihrer Isolierung nur adsorbiert wurde und nicht organisch gebunden vorhanden ist.

Tabelle XXXI

Der biologische Nährwert von Foenum graecum Mehl. Das zum Versuch benutzte Mehlfutter hatte einen Proteingehalt von 10 %.

Ratten-Nummer	Anfangsgewicht	Endgewicht	Futter gefressen pro Tag	Gesamt Stickstoff im gefressenen Futter	Stickstoff im Kot	Stickstoff im Harn	Stoffwechsel Stickstoff im Kot auf 1 g des Futters	Endogener Stickstoff im Harn auf 100 g Körpergewicht	Stickstoff im Kot der von Futter herrührt	Absorbierter Stickstoff	Vom Futter herrührender Stickstoff im Harn	Zurückgehaltener Gesamt Stickstoff	Biologischer Nährwert	Durchschnitt des biologischen Nährwertes
	g	g	g	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	%	%
I. Periode. Futter ohne Protein. Stickstoff = 0,096 %.														
1	84	73	6,70	6,43	15,36	20,19	2,29	25,72	—	—	—	—	—	—
2	105	92	8,12	7,80	30,06	29,45	3,70	29,85	—	—	—	—	—	—
3	134	118	10,48	10,61	32,85	35,11	3,13	27.87	—	—	—	—	—	—
4	99	90	8,58	8,24	21,28	26,09	2,48	27,61	—	—	—	—	—	—
5	105	97	9,58	9,20	24,61	25,78	2,57	25,52	—	—	—	—	—	—
6	87	75	8,14	7,81	21.95	22,42	2,70	27,68	—	—	—	—	—	—
II. Periode. Futter mit Foenum graecum Mehl. Stickstoff = 1,71 %														
1	72	74	6,04	103,28	62,34	37,93	—	—	48,51	54,77	19,16	35,61	65	
2	89	87	6,71	114,74	62.64	56,28	—	—	37,81	76,93	30,01	46,92	61	
3	117	118	8,51	145,52	95,76	61,78	—	—	69,13	76,39	29,03	47,36	62	61
4	93	102	8,44	144.32	79,93	61,05	—	—	59,00	85,32	34,13	51,19	60	
5	95	96	7,23	123,63	82,46	46.48	—	—	63,88	59,75	22,11	37,64	63	
6	70	68	6,00	102,60	66,63	42,05	—	—	50,44	52,17	22,95	29.22	56	

Tabelle XXXII.

Der biologische Nährwert von Lathyrus sativus Mehl. Das zum Versuch benutzte Mehlfutter hatte einen Proteingehalt von 10 %.

Ratten-Nummer	Anfangsgewicht	Endgewicht	Futter gefressen pro Tag	Gesamt Stickstoff im gefressenen Futter	Stickstoff im Kot	Stickstoff im Harn	Stoffwechsel Stickstoff im Kot auf 1 g des Futters	Endogener Stickstoff im Harn auf 100 g Körpergewicht	Stickstoff im Kot der von Futter herrührt	Absorbierter Stickstoff	Vom Futter herrührender Stickstoff im Harn	Zurückgehaltener Gesamt Stickstoff	Biologischer Nährwert	Durchschnitt des biologischen Nährwertes
	g	g	g	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	%	%
I. Periode. Futter ohne Protein. Stickstoff = 0,096 %.														
1	84	73	6,70	6,43	15,36	20,19	2,29	25,72	—	—	—	—	—	—
2	105	92	8,12	7,80	30,06	29,45	3,70	29,85	—	—	—	—	—	—
3	134	118	10,48	10,61	32,85	35,11	3,13	27,87	—	—	—	—	—	—
4	99	90	8,58	8,24	21,28	26,09	2,48	27,61	—	—	—	—	—	—
5	105	97	9,58	9,20	24,61	25,78	2,57	25,52	—	—	—	—	—	—
6	87	75	8,14	7,81	21,95	22,42	2,70	27,68	—	—	—	—	—	—
II. Periode. Futter mit Lathyrus sativres Mehl. Stickstoff = 1,78 %.														
1	76	75	6,09	109,01	35,51	55,30	—	—	21,56	87,45	35,88	51,57	59	
2	93	93	8,15	145,89	60,78	72,71	—	—	30,62	115,27	44,95	70,32	61	
3	118	120	9,18	164,32	60,71	87,16	—	—	31,98	132,34	54,00	78,34	59	58
4	95	94	8,00	143,20	60,85	70,82	—	—	41,01	102,19	44,73	57,46	56	
5	96	95	8,34	149,29	59,65	70,62	—	—	38,21	111,08	46,25	64,83	58	
6	77	73	6,18	110,62	47,38	58,32	—	—	30,69	79,93	37,56	42,37	53	

Tabelle XXXIII.

Der biologische Nährwert von Elusine coracana Mehl. Das zum Versuch benutzte Mehlfutter hatte einen Proteingehalt von 5 %.

Ratten-Nummer	Anfangsgewicht	Endgewicht	Futter gefressen pro Tag	Gesamt Stickstoff im gefressenen Futter	Stickstoff im Kot	Stickstoff im Harn	Stoffwechsel Stickstoff im Kot auf 1 g des Futters	Endogener Stickstoff im Harn auf 100 g Körpergewicht	Stickstoff im Kot der von Futter herrührt	Absorbierter Stickstoff	Vom Futter herrührender Stickstoff im Harn	Zurückgehaltener Gesamt Stickstoff	Biologischer Nährwert	Durchschnitt des biologischen Nährwertes
	g	g	g	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	%	%
I. Periode. Futter ohne Protein. Stickstoff = 0,078 %.														
1	63	58	4,79	3,74	10,71	19,55	2,24	32,31	—	—	—	—	—	—
2	81	71	4,03	3,14	6,55	20,55	1,63	27,04	—	—	—	—	—	—
3	105	94	4,65	3 63	4.58	28,93	0,98	29,08	—	—	—	—	—	—
4	94	83	4,70	3,67	9,50	23,51	2,02	26,56	—	—	—	—	—	—
5	91	78	3,34	2,61	6.94	24,54	2,08	28,92	—	—	—	—	—	—
6	62	56	4,57	3.56	7,69	19,05	1,68	32,29	—	—	—	—	—	—
II. Periode. Futter mit Eleusine coracana Mehl. Stickstoff = 0,8 %.														
1	71	66	6,52	52,16	30,72	24,71	—	—	16,56	35,60	2,58	33,02	93	
2	85	83	7,47	59,76	32,60	25,86	—	—	20,42	39,34	3,14	36,20	92	
3	99	107	7.40	59,20	29,79	31,19	—	—	22,54	36,66	2,26	34,40	94	91
4	89	100	9 71	77,68	46.55	30,17	—	—	26,93	50,75	5,07	45,68	90	
5	98	94	6,34	50,72	17,17	32,05	—	—	3,98	46,74	4,27	42,47	91	
6	68	67	7,12	56,96	31,12	24,75	—	—	19,03	37,93	5,70	32,23	85	

Tabelle XXXIV.

Der biologische Nährwert von Sorghum vulgare Mehl. Das zum Versuch benutzte Mehlfutter hatte einen Proteingehalt von 5 %.

Ratten-Nummer	Anfangsgewicht	Endgewicht	Futter gefressen pro Tag	Gesamt Stickstoff im gefressenen Futter	Stickstoff im Kot	Stickstoff im Harn	Stoffwechsel Stickstoff im Kot auf 1 g des Futters	Endogener Stickstoff im Harn auf 100 g Körpergewicht	Stickstoff im Kot der von Futter herrührt	Absorbierter Stickstoff	Vom Futter herrührender Stickstoff im Harn	Zurückgehaltener Gesamt Stickstoff	Biologischer Nährwert	Durchschnitt des biologischen Nährwertes
	g	g	g	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	%	%
I. Periode. Futter ohne Protein. Stickstoff = 0,078 %.														
1	63	58	4,79	3,74	10,71	19,55	2,24	32,31	—	—	—	—	—	—
2	81	71	4,03	3,14	6,55	20,55	1,63	27,04	—	—	—	—	—	—
3	105	94	4,65	3,63	4,58	28,93	0,98	29,08	—	—	—	—	—	—
4	94	83	4,70	3,67	9,50	23,51	2,02	26,56	—	—	—	—	—	—
5	91	78	3,34	2,61	6,94	24,54	2,08	28,92	—	—	—	—	—	—
6	62	56	4,57	3,56	7,69	19,05	1,68	32,29	—	—	—	—	—	—
II. Periode. Futter mit Sorghum vulgare Mehl. Stickstoff = 0,85 %.														
1	74	66	6,95	59,08	29,53	34,37	—	—	15,57	43,51	11,75	31,76	73	
2	86	82	7,14	60,69	34,05	29,99	—	—	22,41	38,28	7,27	31,01	81	
3	111	114	10,07	85,60	23,01	51,27	—	—	13,14	72,46	18,56	53,90	75	77
4	93	98	11,11	94,44	45,49	42,09	—	—	23,04	71,40	16,73	54,67	77	
5	93	97	9,51	80,84	35,17	42,62	—	—	15,39	65,45	15,15	50,30	77	
6	68	63	7,36	62,56	32,19	30,12	—	—	19,88	42,68	8,97	33,71	79	

Tabelle XXXV.

Der biologische Nährwert von Globulin aus Lathyrus sativus. Das zum Versuch benutzte Mehlfutter hatte einen Proteingehalt von 5 %.

Ratten-Nummer	Anfangsgewicht	Endgewicht	Futter gefressen pro Tag	Gesamt Stickstoff im gefressenen Futter	Stickstoff im Kot	Stickstoff im Harn	Stoffwechsel Stickstoff im Kot auf 1 g des Futters	Endogener Stickstoff im Harn auf 100 g Körpergewicht	Stickstoff im Kot der von Futter herrührt	Absorbierter Stickstoff	Vom Futter herrührender Stickstoff im Harn	Zurückgehaltener Gesamt Stickstoff	Biologischer Nährwert	Durchschnitt des biologischen Nährwertes
	g	g	g	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	%	%
I. Periode. Futter ohne Protein. Stickstoff = 0,078 %.														
1	95	80	6,14	4,79	7,75	31,40	1,26	35,88	—	—	—	—	—	—
2	91	78	7,01	5,47	8,44	47,92	1,20	56,70	—	—	—	—	—	—
3	45	37	4,93	3,85	8,01	20,79	1,63	50,71	—	—	—	—	—	—
4	76	70	7,13	5,56	11,49	28,59	1,61	39,16	—	—	—	—	—	—
5	80	67 5	6,90	5,38	12,60	26,06	1,83	35,23	—	—	—	—	—	—
6	96	83	7,59	5,92	16,04	31,05	2,11	34,70	—	—	—	—	—	—
II. Periode. Futter mit Globulin aus Lathyrus sativus. Stickstoff = 1,54 %.														
1	78	80	4,88	75,15	13,80	62,49	—	—	7,65	67,50	34,14	33,36	49	51
2	73	78	5,18	79,77	15,07	75,66	—	—	8,85	70,92	32,85	38,07	53	
3	36	40	3,51	54,05	6,87	46,92	—	—	1,15	53,90	27,65	26,25	48	
4	64	68	4,31	66,37	8,13	55,86	—	—	1,19	65,18	30,02	35,16	54	
5	65	68	4,81	74,07	10,84	58,69	—	—	2,04	72,03	35,26	36,87	51	
6	80	82	5,03	77,46	20,01	61,08	—	—	9,40	68,06	32,97	35,09	52	

ZUSAMMENFASSUNG

I. Teil.

Die Bedeutung des Proteins als Hauptbestandteil der Nahrungsmittel und die verschiedenen theoretischen Beziehungen z. B. Proteingehalt, wesentliche Aminosäuren, optimale Proteinzufuhr, Wachstum, Unterernährung und Entzug des Proteins, Notwendigkeit der Proteinzufuhr, Rolle des Proteins in der Nahrung, Verdaulichkeit der Proteine und biologischer Nährwert werden erörtert.

Die verschiedenen Proteine aus Foenum Graecum, Lathyrus sativus, Eleusine coracana und Sorghum vulgare wurden nach bekannten Verfahren hergestellt und nach der von Plimmer und Rosedale verbesserten Vanslykeschen Methode analysiert. Bei dieser Bestimmungsart werden die wesentlichen Aminosäuren teilweise oder gänzlich zerstört. Aus diesem Grunde habe ich den Gehalt an den wesentlichen Aminosäuren in frischem Material nach der im praktischen Teil Seite 23 angegebenen Methode bestimmt.

Der biologische Nährwert (von Foenum Graecum Mehl, Sorghum vulgare, Eleusine coracana, Lathyrus sativus und dem Globulin aus Lathyrus sativus) wurde nach dem Verfahren von Mitchell bestimmt. Die Verdaulichkeit der oben erwähnten Nahrungsmittel wurde nach der Wagnerschen Methode in vitro mit Pepsin als Ferment festgestellt. Eine kurze Beschreibung dieser beiden Untersuchungsmethoden ist gegeben worden.

Die Ergebnisse der chemischen Analyse zeigen, daß das Globulin aus Lathyrus sativus einen höheren basischen Stickstoffgehalt besitzt als die Globuline aus Foenum Graecum, während die Prolamine aus Eleusine coracana und Sorghum vulgare einen niedrigeren basischen Stickstoffgehalt besitzen, eine Tatsache, die für die Prolamine charakteristisch ist. Der Histidingehalt des Globulins aus Foenum Graecum ist doppelt so groß wie der des Globulins aus Lathyrus sativus. Foenum Graecum, Eleusine coracana und Sorghum vulgare haben ungefähr denselben Tyrosingehalt, einen geringeren jedoch Lathyrus sativus. Es ist interessant, daß Sorghum vulgare und Eleusine coracana ungefähr dreimal soviel Tryptophan enthalten als Lathyrus sativus und Foenum Graecum. Lathyrus sativus hat 10 % Lysin. Da diese Aminosäure für das Wachstum des Körpers unbedingt notwendig ist, so sind die anderen drei untersuchten Nahrungsmittel in dieser Beziehung

nicht als vollwertig zu betrachten und daher für die Ernährung weniger wertvoll.

Die Ergebnisse der Fütterungsversuche zeigen, daß Eleusine coracana den höchsten biologischen Nährwert hat. Dieser beträgt 91 %, der von Sorghum vulgare ist 77 %, Foenum Graecum 61 % und Lathyrus sativus 58 %. Die Globuline aus Lathyrus sativus Mehl haben einen biologischen Nährwert von 51 %. Der Grund für den niedrigen biologischen Nährwert von Lathyrus sativus und Foenum Graecum kann auf dem niedrigen Tryptophangehalt dieser Nahrungsmittel beruhen.

Die Ergebnisse der Verdaulichkeit dieser Nahrungsmittel nach der Wagnerschen Methode zeigen, daß Lathyrus sativus den niedrigsten Prozentsatz an unverdaulichem Eiweiß besitzt und Foenum Graecum, Sorghum vulgare und Eleusine coracana mehr unverdauliches Eiweiß enthalten.

II. Teil.

Ich habe bereits in einer früheren Veröffentlichung (35) gezeigt, daß die Globuline aus dem Aktasamen verschiedenen Phosphorgehalt besitzen. Sind diese aber mit Ammoniumsulfat fraktioniert worden, so sind die verschiedenen Globulinfraktionen phosphorfrei, während die Albumine 10,14 % Phosphor und 6,86 % Stickstoff enthalten.

Um zu untersuchen, ob der Phosphor in organischer Bindung oder nur als Verunreinigung der Albumine vorlag, wurden diese von mir nochmals unter denselben Bedingungen hergestellt. Die Analyse ergab 2,09 % Phosphor und 10,71 % Stickstoff. Die Differenz der beiden Werte zeigt, daß der Phosphor nicht in organischer Form vorhanden ist.

Das Albumin aus Aktasamen ergab einen Aschegehalt von 6,05 %. Bei der qualitativen Analyse fand ich Ammonium und Phosphorsäure als anorganische Bestandteile. Die anorganische Beschaffenheit des Phosphors wurde jetzt von mir durch weitere Versuche bestätigt. (Siehe Seite 39—40.

LITERATUR

1. E. Abderhalden: Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. IV., Teil 9, S. 713.
2. E. Abderhalden und Rona, P.: Zeitschr. f. physiol. Chem. 1901, 42, 528—539, C. 1904. II. 1423.
3. W. M. Bartlett: Journ. Lab. clin. Medicine 1926, 12, 115—18, C. 1927. I. 1971.
4. Benedict-Denis: Journ. biol. Chem. 1911, 8, 401.
5. Buchanan: Report on Lathyrism in the central provinces, Seen only in abstract.
6. G. Bertrand u. Weißweller, G.: Compl. Rend. 1908, **147,** 252, ibid 1910, **150.** 180, ibid 1910, **151,** 325; C. 1908, II, 878; C. 1911, C. I, 25, 227, 721, 807, 1136.
7. H. Chick u. E. M. Hume: Biochem. Journ. 1920, **14,** 135—46, C, 1920, III, 101.
8. K. M. Daoud: Biochem. Journ. 1932, **26,** 255, C. 1932, II, 3105.
9. W. Denis u. A. S. Minot: Journ. biol. Chem. 1919, **37,** 353—66, C. 1919, IV, 117.
10. O. Folin: Amer. Journ. of Physiology 1905, **13,** 66—115 u. 117—138. C. 1905, I, 828 u. 1039.
11. O. Folin u. A. D. Marenzi: Journ. biol. Chem. 1929, **83,** 89, C. 1929, II, 2082.
12. C. R. Harihara Iyer u. B. N. Sastri: Journ. Ind Inst. of Sci. 1933, Vol. **16** A. part VII, 88. C. 1934. I. 1660.
13. R. Hoagland u. G. G. Snider:: Journ. Agric. Res. 1927, **34,** 297—308. C. II. 1927. 844.
14. L. E. Holt u. H. L. Fales: Amer. Journ. of dis. of children 1921, **21,** 1—28. C. 1921. III. 120
15. H. von Hoeßlin: Arch. f. Hyg. 1919, **88,** 147—183, C. 1919. III. 233.
16. A. Howard, L. A. P. Anderson u. J. L. Simonsen: Ind. Journ. Med. Res. 1924, 25, **12,** 613, C. 1926. I. 165.
17. R. W. Jackson, B. E. Sommer u. W. C. Rose: Journ. biol. Chem. 1928, **80,** 167—186, C. 1929. I. 1709.
18. W. H. Jansen: Münch. med. Wochenschr. 1918, 65, 10—13 u. 1112, C. 1918. I. 361, C. 1918. II. 1052.
19. O. Kestner: Dtsch. med. Wochenschr. 1919, **45,** 235—237, C. 1919. I. 670, Dtsch. m. Wschr. 1919, **45,** 285—87, C. 1919. I. 752 Kli. Wo. 1922, I. 1795, C. 1922, III. 1230. Ztschr. f. physiol. Chem. 1923, **130,** 208—16, C. 1924. I. 69.
20. O. Loewi: Centralbl. f. Physiol. 1902, **15,** 590—91, C. 1902. I. 329. Arch. exp. Pathol. u. Pharmak. 1903, **48,** 303—30. C. 1903, II. 131 Z. f. Biolog. 1901, **46,** 110—12, C. 1901. II. 139.
21. A. Loewy: Centralbl. f. Physiol. 1906, **19,** 857—58, C. 1906. I. 863.
22. H. H. Mitchell: Journ. biol. Chem. 1923, **58,** 905—22, C. 1924. I. 2282. Journ. biol. Chem. 1924, **59,** 873—903, C. 1924, I. 2293. Proc. Am. Soc. Animal Production 1922.
23. H. H. Mitchell u. G. G. Carman: Journ. biol. Chem. 1924, **60,** 613—620, Journ. biol. Chem. 1926, **68,** 183. C. 1924. II. 1943.
24. J. C. Martin u. R. Robinson: Biochem. J. 1922, **16,** 407, C. 1922. III. 1230.
25. M. Mirande: Compt. Rend. 1921, **172,** 1142 u. 1202, C. 1921. III. 566.
26. R. V. Mc. Collum, N. Simmonds u. W. Pitz: Journ. biol. Chem. 1917, **30,** 13—22. C. 1918. I. 288.

27. W. B. Nevens: Journ. Dairy Sci. 1921, IV. 552, C. 1922. III. 393.
28. S. P. Niogi, N. Narayana u. B. G. Desai: Ind. Journ. Med. Res. 1934. **19.** 1041—54, ibid **22,** 373—82, C. 1935. I. 2392.
29. T. B. Osborne u. Mendel: Journ. biol. Chem. 1919, **37,** 572. Journ. biol. Chem. 1920, **41,** 275. Journ. biol. Chem. 1914, **17,** 328.
30. T. B. Osborne u. Mendel u. Ferry: Journ. biol. Chem. 1919, **37,** 223. C. 1919. III. 62.
31. K. Oshima: School of Fishery, Hokeida Imperial Univ. Japan 1934. **4.**
32. R. H. A. Plimmer u. J. Lowndes: Biochem. Journ. 1927, **21,** 247, C. 1927. II. 145.
33. R. H. A. Plimmer u. T. L. Rosedale: Biochem. Journ. **19,** 1004 u. 1020, C. 1926. II. 77.
34. Y. V. S. Rau u. Sreenivasaya, M.: Journ. Ind. Inst. of Sci. 1932. Vol. **15** A, part IX, 122, C. 1933. II. 1104.
35. Y. V. S. Rau: Proc. of the Ind. Acad. of Sci. 1934. Sect. B, I, 73—79. C. 1936. I. 785.
36. Y. V. S. Rau, Sastri u. Narayana: Journ. Ind. Inst. of Sci. 1933, Vol. 15 A, part VII, 85. C. 1934. I. 785.
37. R. Robison: Biochem. Journ. 1922, 16, 111—130, C. 1922, III. 280. Biochem. Journ. 1922, 16, 131—133, C. 1922, III. 750.
38. Ritthausen: Journ. Prakt. Chem. 1870, **2,** 336, ibid. 1873, **7,** 374. C. 1876. I. 326.
39. M. Rubner: Z. Biolog. 1897, **36,** 56—76, C. 1898. I. 345.
40. H. C. Sherman: Journ. biol. Chem. 1920, **51,** 97. Proc. National Acad. Sci. 1919, 6, 38—40, C. 1920. III. 101.
41. Stockmann: Edin. Med. Journ. 1917. **19.** 277.
42. Steyn: Onderstepoort, Journ. Vet. Sci. 1933, **1,** 163—171.
43. K. Thomas: Arch. f. Anat. Phys. (Waldeyer Engelmann) physiol. Abt. 1909, 219—302, C. 1909. II. 1359.
44. T. Tillmans u. A. Alt: Biochem. Ztschr. 1925, **104,** 135, C. 1926. II, 278. Biochem. Ztschr. 1926, 233—244, **178.** C. 1928. III. 2583.
45. D. D. Vanslyke: Journ. Biol. Chem. 1911, **10,** 15. C. 1911. II. 575.
46. E. G. Willcock u. F. G. Hopkins: Amer. Journ. of Physiol. 1907, **55,** 88—102, C. 1907. I. 416.
47. H. Wevers: Angew. Chem. 1934, **47,** 822.
48. O. Wagner: Angew. Chem. 1935, **48,** 339. C. 1936. I. 221.
49. R. Wagner: Ztschr. f. d. ges. exp. Med. 1923, **33,** 250—315, C. 1923. III. 1043.
50. W. H. Wilson: Jour. Hyg. Camb. 1921, **20.** 1.
51. V. Zagami u. V. Famiani: Arch. ital. Biol. 1935, **98,** 119—127. C. 1935. I. 3301.
52. N. Zuntz u. A. Loewy: Biochem. Zentralbl., 1918, **90,** 244—264. C. 1919. I. 47.

LEBENSLAUF

Am 8. VII. 1908 wurde ich als Sohn des früheren Beamten und jetzigen Landwirtes Y. Venkanna in Yelandur, im Staate Mysore (Indien) geboren. Ich besuchte die Schule in Mysore und bestand das S. S. L. C.-Examen im Jahre 1923—24 und Universitätsexamen (U. E.) 1924—25. Nach dem Besuch der Universität (Central-College) Bangalore machte ich das Bachelor of Science-Examen (B. Sc.) mit Chemie als Hauptfach und Physik als Nebenfach im Jahre 1928. 1929 wurde ich als Forschungsstipendiat in der biochemischen Abteilung des „Indian Institute of Science" Bangalore aufgenommen. Von 1930 bis Juli 1934 arbeitete ich als Assistent an „Spike Disease Investigation" mit Unterstützung der Regierung in Madras. Während dieser Zeit erwarb ich mir im Jahre 1932 den Titel eines Master of Science (M. Sc., Distinction) an der Universität Bombay auf Grund einer Dissertation und ein Diplom vom Indian Institute of Science (A. I. I. Sc.).

Durch ein Stipendium der Lady Tata Memorial Trust (Bombay) und der Deutschen Akademie (München) kam ich nach Deutschland, um an der Martin-Luther-Universität Halle weiterzustudieren. Im Oktober 1935 bekam ich das Diplom A. I. C. (London) auf Grund einer Dissertation.

Die vorliegenden Arbeit fertigte ich unter der Anleitung von Herrn Professor Dr. C. A. Rojahn seit Januar 1935 an. Ich möchte ihm auch an dieser Stelle für seine vielseitige Unterstützung und wertvolle Beratung während meiner Untersuchungen meinen verbindlichsten Dank aussprechen.

Ferner möchte ich nicht versäumen, dem Lady Tata Memorial Trust (Bombay) und dem India Institut der Deutschen Akademie (München) für ihre finanzielle Unterstützung, die mir meinen Aufenthalt und mein Studium in Deutschland ermöglichten, meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Eduard Klinz Buchdruck-Werkstätten Halle (Saale), Dölauer Straße 14
Spezialdruckerei für wissenschaftliche Werke und Dissertationen